

ALTES TARGET, NEUE HITS -
ENTWICKLUNG VON INHIBITOREN FÜR
DIE PIM1-KINASE

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

dem

Fachbereich Pharmazie der

Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Lukas M. Heyder

aus Delmenhorst

Marburg/Lahn 2021

Erstgutachter: Prof. Dr. Wibke Diederich

Zweitgutachter: Prof. Dr. Peter Kolb

Eingereicht am: 05.02.2021

Disputation am: 19.03.2021

Hochschulkennziffer: 1180

Ich versichere, dass ich meine Dissertation mit dem Titel

„Altes *Target*, neue *Hits* - Entwicklung von Inhibitoren für die PIM1-Kinase“

selbstständig ohne unerlaubte Hilfe angefertigt und mich dabei keiner anderen als der von mir bezeichneten Quellen bedient habe. Alle vollständig oder sinngemäß übernommenen Zitate sind als solche gekennzeichnet.

Diese Dissertation wurde in der jetzigen oder einer ähnlichen Form noch bei keiner anderen Hochschule eingereicht und hat auch noch keinen sonstigen Prüfungszwecken gedient.

Marburg, den 05.02.2021

Lukas Heyder

Danksagung

An erster Stelle danke ich *Frau Prof. Dr. Wibke E. Diederich* für die viele Unterstützung während dieser lehrreichen Zeit in ihrem Arbeitskreis und für die gewährten Freiheiten bei der Bearbeitung der Projekte.

Weiterhin möchte ich mich bei *Herrn Prof. Dr. Peter Kolb* für die Übernahme des Zweitgutachtens und die gute Zusammenarbeit im Rahmen des PIM1-Projektes bedanken.

Herrn Prof. Dr. Shu-Ming Li und *Herrn Prof. Dr. Cornelius Krasel* danke ich für die Übernahme der Nebenfachprüfungen.

Außerdem danke ich meinen aktuellen und ehemaligen Kollegen aus dem Arbeitskreis und dem Praktikum – ohne euch wäre diese Zeit sehr viel weniger bunt, lustig und angenehm gewesen: *William Scanlan, Michael Daude, Dr. Iris Nee, Anna Sandner, Dr. Lukas Dempwolff, Phil Hochban, Kerstin Mark, Lukas Eberhardt, Magdalena Lauer, Erik Wilhelmi* und *Lukas Imberg*.

Besonderer Dank geht an *Claudia Heerklotz* und *Christian Iking*, die mich mit großem Einsatz und Fleiß bei meinen Projekten unterstützt haben. Dafür danke ich auch meinen Vertiefungspraktikanten: *Jonas Niemann, Henning Kutzner, André Schmiegel* und *Joshua Grimmer*.

Ferner möchte ich mich bei allen bedanken, mit denen ich im Rahmen der Projekte innerhalb und neben dieser Arbeit zusammenarbeiten durfte. Dazu gehören *Dr. Corey Taylor, Dr. Florent Chevillard* und *Maria Giovanna Papadopoulos* sowie *Victor Jun Yu Lim* aus der AG Kolb, *Dr. Andreas Nguyen* aus der AG Klebe, *Dr. Michael Kurz* aus der AG Bünemann und *Dr. Anja Jelinek* aus der AG Culmsee.

Mein größter Dank gilt meiner Frau *Lisa* für ihre Unterstützung und Geduld, welche mich auch durch die schwierigen Zeiten dieser Arbeit getragen haben, sowie meinen *Eltern*: Ohne euch wäre mir diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Vielen Dank!

1	<u>EINLEITUNG</u>	<u>1</u>
1.1	PROTEIN-KINASEN - EIN ÜBERBLICK	1
1.1.1	STRUKTUR UND FUNKTION VON PROTEIN-KINASEN ⁸	3
1.2	DIE FAMILIE DER PIM-KINASEN	6
1.2.1	PHYSIOLOGISCHE FUNKTIONEN	6
1.2.2	PATHOPHYSIOLOGISCHE EINORDNUNG	12
1.2.3	STRUKTUR UND DRUGGABILITY	15
1.3	DIE PIM1-KINASE IM FOKUS DER WIRKSTOFFENTWICKLUNG	18
1.3.1	DER WEG ZUM WIRKSTOFF	18
1.3.2	STAND DER FORSCHUNG IM BEREICH DER PIM1-INHIBITOREN	21
1.4	AUFGABENSTELLUNG	25
2	<u>DARSTELLUNG SYNTHETISCH ANSPRUCHSVOLLER VIRTUAL SCREENING-HITS FÜR DIE PIM1-KINASE</u>	<u>26</u>
2.1	ENTWICKLUNG DER STRUKTURVORSCHLÄGE	26
2.2	RETROSYNTHETISCHE BETRACHTUNG	28
2.3	SYNTHESE DER 1. SERIE	29
2.3.1	VERBINDUNG 2.1 – DEMETHYLIERTES DERIVAT UND RACEMAT	30
2.3.2	VERBINDUNG 2.2	32
2.4	TESTUNG DER BIOLOGISCHEN AKTIVITÄT	34
2.5	PROTEINKRISTALLSTRUKTUR MIT 2.26	35
2.6	FAZIT DER 1. SERIE	38
2.7	SYNTHESE DER 2. SERIE	39
2.7.1	RATIONALE MODIFIZIERUNG	39
2.7.2	LITERATURGESTÜTZTE MODIFIZIERUNG	40
2.8	TESTUNG DER BIOLOGISCHEN AKTIVITÄT	43
2.9	FAZIT DER 2. SERIE	44
3	<u>FRAGMENT-BASIERTE ENTWICKLUNG VON INHIBITOREN</u>	<u>47</u>
3.1	FRAGMENT-BASIERTES VIRTUAL SCREENING	50
3.1.1	SYNTHESE	50
3.1.2	TESTUNG DER BIOLOGISCHEN AKTIVITÄT	54
3.2	EVALUATION DER FRAGMENT-KRISTALLSTRUKTUR	55
3.2.1	SYNTHESE	55
3.2.2	PROTEINKRISTALLSTRUKTUR MIT 3.1 UND 3.2	56
3.3	RATIONALE SAR	58
3.3.1	SYNTHESE	61
3.3.2	TESTUNG DER BIOLOGISCHEN AKTIVITÄT	66
3.4	FAZIT	67
4.	<u>SYNTHESE UND OPTIMIERUNG FRAGMENT-BASIERTER VIRTUAL-SCREENING-HITS</u>	<u>70</u>
4.1	ENTWICKLUNG DER ZU SYNTHETISIERENDEN STRUKTURVORSCHLÄGE	71
4.2	SYNTHESE DER STRUKTURVORSCHLÄGE AUS DEM VIRTUAL SCREENING	72
4.2.1	VERBINDUNG 4.12	74
4.2.2	VERBINDUNG 4.13	76
4.2.3	VERBINDUNG 4.14	78
4.2.4	VERBINDUNG 4.5	80
4.2.5	VERBINDUNG 4.10	81

4.2.6	VERBINDUNG 4.15	83
4.2.7	VERBINDUNG 4.16	84
4.2.8	SYNTHESE - FAZIT	90
4.3	TESTUNG DER BIOLOGISCHEN AKTIVITÄT	91
4.4	PROTEINKRISTALLSTRUKTUR MIT 4.70	92
4.5	VIRTUAL SCREENING - FAZIT	93
4.6	WEITERENTWICKLUNG DER BENZOFURAN-DERIVATE.....	94
4.7	STILBENE - 1. SERIE.....	94
4.7.1	SYNTHESE.....	95
4.7.2	TESTUNG DER BIOLOGISCHEN AKTIVITÄT	98
4.7.3	PROTEINKRISTALLSTRUKTUREN MIT 4.83 UND 4.82	100
4.8	STILBENE - 2. SERIE.....	102
4.8.1	SYNTHESE.....	102
4.8.2	TESTUNG DER BIOLOGISCHEN AKTIVITÄT	109
4.9	STILBENE - FAZIT	110
4.10	INDOLIN-2-ONE - 1. SERIE	114
4.10.1	SYNTHESE.....	116
4.10.2	TESTUNG DER BIOLOGISCHEN AKTIVITÄT	118
4.11	INDOLIN-2-ONE - GRUNDLEGENDE ERSTE SAR.....	119
4.11.1	A - AMINOGRUPPE (4.136)	120
4.11.2	B - CARBOXYLGRUPPE (4.137)	120
4.11.3	C - LACTAM-NH (4.138).....	120
4.11.4	D - DOPPELBINDUNG (4.139)	122
4.11.5	NITRO-DERIVAT.....	122
4.11.6	TESTUNG DER BIOLOGISCHEN AKTIVITÄT	123
4.11.7	PROTEINKRISTALLSTRUKTUR MIT 4.136.....	126
4.12	INDOLIN-2-ONE - FAZIT.....	127
5	<u>EXPERIMENTELLER TEIL</u>	<u>129</u>
5.1	ALLGEMEINER TEIL.....	129
5.1.1	PROTEINKRISTALLSTRUKTUREN.....	129
5.1.2	BIOLOGISCHE TESTUNG.....	129
5.1.3	ALLGEMEINE ARBEITSWEISE.....	129
5.1.4	MIKROWELLENREAKTIONEN.....	129
5.1.5	KUGELROHRDESTILLATION	129
5.1.6	HOCHVAKUUM.....	130
5.2	ANALYTIK	130
5.2.1	DC UND FLASH-CHROMATOGRAPHIE.....	130
5.2.2	MPLC	130
5.2.3	PRÄPARATIVE HPLC.....	130
5.2.4	HPLC-MS-SYSTEM.....	130
5.2.5	KERNMAGNETRESONANZSPEKTROSKOPIE (NMR).....	131
5.2.6	HOCHAUFLÖSENDE MASSENSPEKTROMETRIE:	131
5.2.7	ELEMENTARANALYTIK:	131
5.2.8	SCHMELZPUNKTBESTIMMUNG:	132

6. SYNTHESE	132
6.1 ALLGEMEINE ARBEITSVORSCHRIFTEN (AAV)	132
6.1.1 AAV_1_BOC-SCHÜTZUNG	132
6.1.2 AAV_2_BORYLIERUNG	132
6.1.3 AAV_3_SUZUKI-KUPPLUNG	132
6.1.4 AAV_4_SUZUKI-KUPPLUNG	133
6.1.5 AAV_5_BOC-ENTSCHÜTZUNG	133
6.2 EINZELSYNTHESEN - KAPITEL 2	134
6.2.1 VERBINDUNG 2.16	134
6.2.2 VERBINDUNG 2.17	136
6.2.3 VERBINDUNG 2.18	138
6.2.4 VERBINDUNG 2.22	140
6.2.5 VERBINDUNG 2.23	142
6.2.6 VERBINDUNG 2.24	144
6.2.7 VERBINDUNG 2.20	146
6.2.8 VERBINDUNG 2.25	148
6.2.9 VERBINDUNG 2.26	150
6.2.10 VERBINDUNG 2.29	152
6.2.11 VERBINDUNG 2.27	154
6.2.12 VERBINDUNG 2.30	156
6.2.13 VERBINDUNG 2.31	158
6.2.14 VERBINDUNG 2.2	160
6.2.15 VERBINDUNG 2.34	162
6.2.16 VERBINDUNG 2.35	164
6.2.17 VERBINDUNG 2.36	166
6.2.18 VERBINDUNG 2.37	168
6.2.19 VERBINDUNG 2.40	170
6.2.20 VERBINDUNG 2.42	172
6.2.21 VERBINDUNG 2.43	174
6.2.22 VERBINDUNG 2.44	176
6.3 EINZELSYNTHESEN - KAPITEL 3	178
6.3.1 VERBINDUNG 3.16	178
6.3.2 VERBINDUNG 3.17	180
6.3.3 VERBINDUNG 3.18	182
6.3.4 VERBINDUNG 3.6	184
6.3.5 VERBINDUNG 3.8	186
6.3.6 VERBINDUNG 3.9	188
6.3.7 5 VERBINDUNG 3.10	190
6.3.8 VERBINDUNG 3.11	192
6.3.9 VERBINDUNG 3.12	194
6.3.10 VERBINDUNG 3.13	196
6.3.11 VERBINDUNG 3.2	198
6.3.12 VERBINDUNG 3.1	200
6.3.13 VERBINDUNG 3.39	202
6.3.14 VERBINDUNG 3.40	204
6.3.15 VERBINDUNG 3.41	206
6.3.16 VERBINDUNG 3.42	208
6.3.17 VERBINDUNG 3.44	210
6.3.18 VERBINDUNG 3.45	212
6.3.19 VERBINDUNG 3.47	214

Inhaltsverzeichnis

6.3.20	VERBINDUNG 3.48	216
6.3.21	VERBINDUNG 3.28	218
6.3.22	VERBINDUNG 3.29	220
6.3.23	VERBINDUNG 3.30	222
6.3.24	VERBINDUNG 3.52	224
6.3.25	VERBINDUNG 3.31	226
6.3.26	VERBINDUNG 3.53	228
6.3.27	VERBINDUNG 3.32	230
6.3.28	VERBINDUNG 3.33	232
6.3.29	VERBINDUNG 3.34	234
6.3.30	VERBINDUNG 3.35	236
6.3.31	VERBINDUNG 3.54	238
6.3.32	VERBINDUNG 3.36	240
6.3.33	VERBINDUNG 3.55	242
6.3.34	VERBINDUNG 3.37	244
6.4	EINZELSYNTHESEN - KAPITEL 4	246
6.4.1	VERBINDUNG 4.19	246
6.4.2	VERBINDUNG 4.21	248
6.4.3	VERBINDUNG 4.22	250
6.4.4	VERBINDUNG 4.24	252
6.4.5	VERBINDUNG 4.25	254
6.4.6	VERBINDUNG 4.18	256
6.4.7	VERBINDUNG 4.26	258
6.4.8	VERBINDUNG 4.27	260
6.4.9	VERBINDUNG 4.34	262
6.4.10	VERBINDUNG 4.32	264
6.4.11	VERBINDUNG 4.37	266
6.4.12	VERBINDUNG 4.39	268
6.4.13	VERBINDUNG 4.30	270
6.4.14	VERBINDUNG 4.43	272
6.4.15	VERBINDUNG 4.44	274
6.4.16	VERBINDUNG 4.45	276
6.4.17	VERBINDUNG 4.8	278
6.4.18	VERBINDUNG 4.9	280
6.4.19	VERBINDUNG 4.48	282
6.4.20	VERBINDUNG 4.51	284
6.4.21	VERBINDUNG 4.53	286
6.4.22	VERBINDUNG 4.55	288
6.4.23	VERBINDUNG 4.52	290
6.4.24	VERBINDUNG 4.54	292
6.4.25	VERBINDUNG 4.56	294
6.4.26	VERBINDUNG 4.61	296
6.4.27	VERBINDUNG 4.58	298
6.4.28	VERBINDUNG 4.63	300
6.4.29	VERBINDUNG 4.15	302
6.4.30	VERBINDUNG 4.67	304
6.4.31	VERBINDUNG 4.68 - KORRIGIERT	306
6.4.32	VERBINDUNG 4.70	308
6.4.33	VERBINDUNG 4.71	310
6.4.34	VERBINDUNG 4.72	312
6.4.35	VERBINDUNG 4.73	314

Inhaltsverzeichnis

6.4.36	VERBINDUNG 4.74	316
6.4.37	VERBINDUNG 4.75	318
6.4.38	VERBINDUNG 4.76	320
6.4.39	VERBINDUNGEN 4.80 UND 4.81	322
6.4.40	VERBINDUNG 4.82	324
6.4.41	VERBINDUNG 4.83	326
6.4.42	VERBINDUNG 4.92	328
6.4.43	VERBINDUNG 4.85	330
6.4.44	VERBINDUNG 4.86	332
6.4.45	VERBINDUNG 4.91	334
6.4.46	VERBINDUNG 4.88	336
6.4.47	VERBINDUNG 4.89	338
6.4.48	VERBINDUNG 4.90	340
6.4.49	VERBINDUNG 4.94	342
6.4.50	VERBINDUNG 4.95	344
6.4.51	VERBINDUNG 4.98	346
6.4.52	VERBINDUNG 4.99	348
6.4.53	VERBINDUNG 4.104	350
6.4.54	VERBINDUNG 4.106	352
6.4.55	VERBINDUNG 4.107	354
6.4.56	VERBINDUNG 4.108	356
6.4.57	VERBINDUNG 4.109	358
6.4.58	VERBINDUNG 4.110	360
6.4.59	VERBINDUNG 4.114	362
6.4.60	VERBINDUNG 4.117	364
6.4.61	VERBINDUNG 4.118	366
6.4.62	VERBINDUNG 4.130	368
6.4.63	VERBINDUNG 4.133	370
6.4.64	VERBINDUNG 4.135	372
6.4.65	VERBINDUNG 4.131	374
6.4.66	VERBINDUNG 4.141	376
6.4.67	VERBINDUNG 4.136	378
6.4.68	VERBINDUNG 4.142	380
6.4.69	VERBINDUNG 4.137	382
6.4.70	VERBINDUNG 4.144	384
6.4.71	VERBINDUNG 4.145	386
6.4.72	VERBINDUNG 4.146	388
6.4.73	VERBINDUNG 4.138	390
6.4.74	VERBINDUNG 4.139	392
6.4.75	VERBINDUNG 4.148	394
6.4.76	VERBINDUNG 4.149	396
7	<u>FORMELVERZEICHNIS</u>	<u>398</u>
7.1	KAPITEL 2	398
7.2	KAPITEL 3	399
7.3	KAPITEL 4	400
8	<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	<u>403</u>

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift	4E-BP1	<i>EIF 4E-binding protein 1</i>
AcOH	Essigsäure	EA	Elementaranalyse
AD	Alzheimer Demenz	EPO	Erythropoietin
AML	Akute Myeloische Leukämie	ESI	<i>electron spray ionisation</i>
APCI	<i>atmospheric pressure chemical ionisation</i>	EtOAc	Ethylacetat
APT	<i>attached proton test</i>	EtOH	Ethanol
Äq.	Äquivalente		
ATP	Adenosintriphosphat	FBDD	<i>fragment based drug design</i>
		FDA	<i>food and drug administration</i>
BAD	<i>Bcl-xl/Bcl-2 associated death promoter</i>		
BAX	<i>Bcl-2 associated protein X</i>	gef.	Gefunden
ber.	Berechnet		
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl	h	Stunde(n)
		HIF	<i>hypoxia-inducible factor</i>
CAMK	Calcium/Calmodulin-abhängige Kinasen	HMBC	<i>heteronuclear bond correlation</i>
Cbz	Benzyloxycarbonyl	HP1 β	<i>heterochromatin-associated protein 1β</i>
CDC25	<i>cell division cycle protein</i>	HPLC	<i>high pressure liquid chromatography</i>
CDK	<i>cyclin-dependent kinase</i>	HR-MS	<i>high resolution mass spectrometry</i>
CH	Cyclohexan	HTS	<i>high throughput screening</i>
CK	Casein-Kinase		
CLK	<i>CDK-like kinases</i>	IC ₅₀	Konzentration halbmaximaler Hemmung
CLL	Chronische Lymphatische Leukämie	JAK	<i>just another kinase</i>
CXCR4	<i>chemokine receptor 4</i>	Kryo-EM	Kryo-Elektronenmikroskopie
		KOtBu	Kalium- <i>tert</i> -butanolat
d	Tag(e)	KOAc	Kaliumacetat
DB	Doppelbindung		
DBU	Diazabicycloundecen	LM	Lösungsmittel
DC	Dünnschichtchromatographie		
DCM	Dichlormethan	m	Masse
DEAD	Diethylazadicarboxylat	MAPK	Mitogen-aktivierte Kinase
DEBC	<i>N,N</i> -Diethylaminobutyl-2-chlorphenoxamin	MCL	Mantelzelllymphom
DIBAL-H	Diisobutylaluminiumhydrid	MeCN	Acetonitril
DLBCL	<i>diffuse large B-cell lymphoma</i>	MeOH	Methanol
DMAP	<i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin	min	Minute(n)
DME	Dimethoxyethan	MPLC	<i>medium pressure liquid chromatography</i>
DMF	Dimethylformamid	MS	Massenspektroskopie

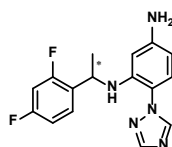
Abkürzungsverzeichnis

DMSO	Dimethylsulfoxid	MW	Mikrowelle
n	Stoffmenge	V	Volumen
NMR	<i>nuclear magnetic resonance spectroscopy</i>	VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>
NOESY	<i>nuclear overhauser enhancement spectroscopy</i>		
NuMa	<i>nuclear mitotic apparatus</i>	X-ray	Röntgenkristallographie
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle		
PIM	<i>proviral insertion site of Moloney leukemia virus</i>		
PINGUI	<i>python in silico de novo growing utilities</i>		
PK	Proteinkinase		
PKA	Protein-Kinase A		
PKI	Proteinkinase-Inhibitor		
PP2A	Phosphatase 2A		
ppm	<i>parts per million</i>		
pRB	<i>retinoblastoma tumor suppressor protein</i>		
qNMR	quantitative NMR-Spektroskopie		
Rfx	Reflux		
ROS	<i>reactive oxygen species</i>		
RT	Raumtemperatur		
RTK	Rezeptor-Tyrosinkinase		
SAR	<i>structure activity relationship</i>		
SCUBIDOO	<i>screenable chemical universe based on intuitive data organisation</i>		
Smp.	Schmelzpunkt		
STAT	<i>signal transducers and activators of transcription</i>		
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl		
TBDPS	<i>tert</i> -Butyldiphenylsilyl		
Tetrakis	Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0)		
TFA	<i>Trifluoroacetic acid</i>		
THF	Tetrahydrofuran		
TK	Tyrosinkinase		
TKL	Tyrosinkinase-like		
TSA	<i>thermal shift assay</i>		

ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen dieser Arbeit wurden auf Grundlage unterschiedlicher Vorarbeiten in drei Projekten neue Verbindungen zur Hemmung der PIM1-Kinase synthetisiert und untersucht. Die Betrachtung der Bindungsmodi vielversprechender Kandidaten anhand von Proteinkristallstrukturen erlaubte die gerichtete Weiterentwicklung der entsprechenden Moleküle unter Anwendung von Methoden des rationalen Wirkstoffdesigns. Das Ziel war die Identifizierung neuartiger Bindemotive, um diese für die *hit-to-lead*-Optimierung zugänglich zu machen und damit Ansatzpunkte für die Entwicklung klinisch nutzbarer PIM1-Inhibitoren zu liefern.

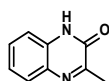
Im ersten Projekt sollten Strukturvorschläge aus einem *virtual screening*-Ansatz synthetisiert werden, für welche trotz intensiver Studien bisher noch keine Syntheseroute etabliert werden konnte. Nach einer erneuten retrosynthetischen Analyse wurde eine Abwandlung der Schlüsselreaktion vorgenommen, sodass schließlich zwei der Strukturvorschläge dargestellt werden konnten. Davon wies Verbindung **2.26** zwar eine mäßige Aktivität ($IC_{50} = 228 \mu M$) gegen das Zielenzym auf, zeigte jedoch gleichzeitig einen sehr gut definierten Bindungsmodus in der Kristallstruktur und wurde daher für die anschließende Optimierung ausgewählt.



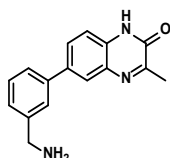
2.26

In der Folge wurden unter Berücksichtigung der beobachteten Bindeposition Vorschläge für eine Verbesserung der Struktur erarbeitet und umgesetzt. Dabei flossen sowohl komparative Analysen bereits publizierter Inhibitoren mit ein, als auch Überlegungen im Rahmen strukturbasierten Wirkstoffdesigns. Es konnte bisher noch keine substanzielle Erhöhung der Affinität erreicht werden, jedoch wurden neue Erkenntnisse über die Bindungseigenschaften des Strukturmotivs gewonnen, welche die zukünftige Entwicklung hochaffiner Derivate unterstützen.

Als Startpunkt des zweiten Projektes wurde die Proteinkristallstruktur des Quinoxalin-Fragmentes **3.2** gewählt. Durch einen Kooperationspartner wurde ausgehend von diesem Fragment mit *in silico*-Methoden eine Reihe von Derivaten generiert und in das Zielenzym *gedockt*. Nach einer Bewertung der Bindungsmodi wurden vielversprechende Exemplare synthetisiert und ihre biologische Aktivität getestet.



3.2

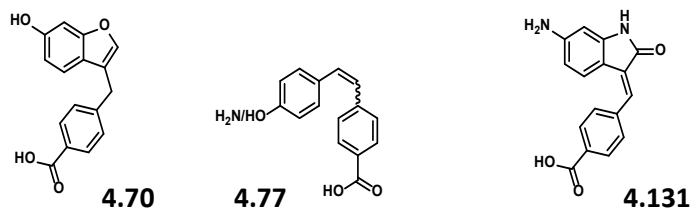


3.37

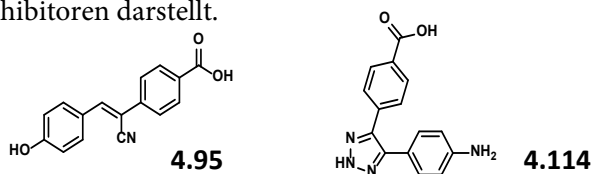
Diese Verbindungen wiesen jedoch keine nennenswerte Aktivität gegen die PIM1-Kinase auf, was Zweifel an der Validität der ursprünglichen Fragment-Kristallstruktur aufwarf. Die erneute röntgenkristallographische Untersuchung des Fragmentes ergab einen zweiten Bindungsmodus, welcher für die Generierung und Bewertung der *docking*-Ergebnisse nicht berücksichtigt worden war.

Um die vermutete Beeinträchtigung der *docking*-Hypothesen durch den inkonsistenten Bindungsmodus des Fragmentes zu umgehen, wurde stattdessen eine systematische Weiterentwicklung im Rahmen ein SAR angestrebt. Dabei konnte Verbindung **3.37** mit einem IC_{50} -Wert von $89\ \mu M$ als vielversprechender Ausgangspunkt für die weitere Optimierung identifiziert werden.

Im dritten Projekt wurden Fragment-basierte Strukturvorschläge aus einem *virtual screening* auf ihre synthetische Umsetzbarkeit hin untersucht und eine Reihe von Zielverbindungen und entsprechender Analoga synthetisiert. Dabei wurde Verbindung **4.70** mit einem IC_{50} -Wert von $26.4\ \mu M$ als geeigneter Startpunkt für die weitere Optimierung identifiziert. Auf Grundlage der Kristallstruktur von **4.70** im Komplex mit PIM1 wurden verschiedene Strukturklassen abgeleitet, welche die relevanten Strukturmerkmale mit einer einfacheren synthetischen Darstellbarkeit kombinieren sollten. Dazu gehörten die Stilbene (**4.77**) und Indolin-2-on **4.131**.



Bei den Stilbenen wurde abhängig vom Substitutionsmuster ein IC_{50} -Wert zwischen $1.60\ \mu M$ und $4.32\ \mu M$ erreicht. Zudem konnten für *cis*- und *trans*-Isomer anhand von Proteinkristallstrukturen unterschiedliche Bindungsmodi festgestellt werden. Zum Zwecke einer weiteren Vereinfachung der Synthese wurde aus dieser Substanzklasse das Cyanostilben **4.95** abgeleitet, welches einen IC_{50} -Wert von $1.72\ \mu M$ aufwies. Diese Verbindungsklasse stellt aufgrund ihrer einfachen Synthetisierbarkeit einen exzellenten Ausgangspunkt dar, um durch eine SAR oder computergestützte Modifizierung eine Optimierung der bereits erreichten Aktivität anzustreben. Ferner wurde ausgehend von der Bestrebung, die *cis*-Stilbene in ihrer Konformation zu stabilisieren, das substituierte Triazol **4.114** entwickelt, welches mit einem IC_{50} -Wert von $4.49\ \mu M$ ebenfalls einen vielversprechenden Ausgangspunkt für die weitere Entwicklung von Inhibitoren darstellt.

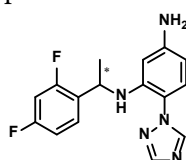


Im Falle der Indolin-2-one zeigte Verbindung **4.131** mit einem IC_{50} -Wert von $0.60\ \mu M$ die stärkste Affinität aller in dieser Arbeit untersuchten Verbindungen. Mithilfe einer SAR konnte die Bedeutung einzelner Strukturmerkmale für die Affinität ermittelt werden, im Zuge dessen wurden zudem Positionen für die gerichtete Weiterentwicklung identifiziert. Anhand der Kristallstruktur eines Analogons konnte ferner der Bindungsmodus dieser Substanzklasse bestimmt werden, sodass nunmehr auch eine computergestützte Optimierung mit den Methoden des Struktur-basierten Wirkstoffdesigns möglich ist. Insgesamt konnten damit im Rahmen dieser Arbeit eine Reihe von *hits* mit Aktivität gegen die PIM1-Kinase im einstellig mikromolaren Bereich identifiziert werden. Durch die Entwicklung von zuverlässigen Syntheserouten verbunden mit der systematischen Analyse der relevanten Struktur motive wurde zudem die Grundlage für nachfolgende Bestrebungen gelegt, diese Verbindungen zu hochaffinen Inhibitoren zu optimieren.

SUMMARY

Within this work, new compounds for inhibiting the PIM1 kinase were synthesized and investigated in three projects based on different preliminary work. The elucidation of the binding modes of promising candidates using protein crystallography allowed for the directed further development of the corresponding molecular structures using methods of rational drug design. The aim was to identify novel binding motifs in order to make them accessible for *hit-to-lead* optimization and thus provide starting points for the development of clinically useful PIM1 inhibitors.

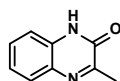
In the first project, structural proposals from a virtual screening approach were to be synthesized for which, despite intensive studies, no synthesis route could yet be established. After a renewed retrosynthetic analysis, a modification of the key reaction enabled the synthesis of at least two of the target compounds. Of these, compound **2.26** showed moderate activity ($IC_{50} = 228 \mu M$) against the target enzyme, but at the same time exhibited a very well-defined binding mode in the crystal structure and was therefore selected for subsequent optimization.



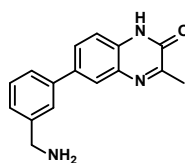
2.26

Accordingly, proposals for improving the structure were developed and implemented, taking into account the observed binding position. This included comparative analyses of already published inhibitors as well as considerations on the context of structure-based drug design. Unfortunately, no substantial increase in affinity could yet be achieved, but the gained insights into the binding properties of the structural motif will support the future development of high-affinity derivatives.

The protein crystal structure of quinoxaline fragment **3.2** was chosen as the starting point for the second project. Using *in silico* methods, a number of derivatives were generated from this fragment and investigated via *docking*. After manual evaluation of the binding mode, promising specimen were synthesized and their biological activity tested.



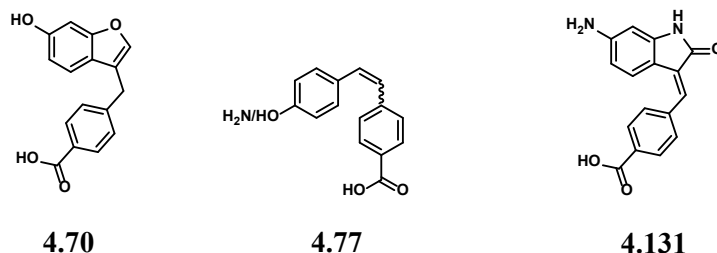
3.2



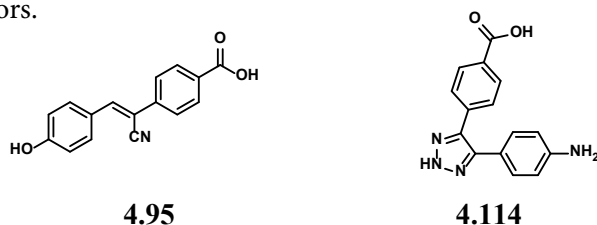
3.37

However, these compounds showed no appreciable activity against the PIM1 kinase, casting doubt on the validity of the binding mode from the initial fragment crystal structure. Re-examination of the fragment by *X-ray* crystallography revealed an alternative binding mode, which had not been considered for generating and evaluating the *docking* results. In order to circumvent the presumed impairment of the *docking* hypotheses by the inconsistent binding mode of the fragment, a systematic development via SAR was pursued instead. This process identified compound **3.37** with an IC_{50} of $89 \mu M$ as a promising candidate for further optimization.

In the third project, fragment-based structure proposals from a virtual screening were examined for their synthetic feasibility and a series of target compounds and corresponding analogues were synthesized. Compound **4.70** with an IC_{50} of $26.4\ \mu M$ was identified as a suitable starting point for further optimization. Based on the crystal structure of **4.70** in complex with PIM1, various structural classes were derived that were intended to combine the relevant structural features with easier synthetic accessibility. These included the group of stilbenes (**4.77**) and indolin-2-one **4.131**.



For the stilbenes, an IC_{50} between $1.60\ \mu M$ and $4.32\ \mu M$ was achieved depending on the substitution pattern. Furthermore, different binding modes could be determined for *cis*- and *trans*-isomers on the basis of the respective protein crystal structures, although the *cis*-isomers exhibited an unstable configuration. In order to simplify the synthesis, cyanostilbene **4.95** was derived from this substance class, which showed an IC_{50} of $1.72\ \mu M$. Due to the convenient synthetic access, this class of compounds represents an excellent starting point to strive for optimization of the already achieved activity through SAR or computer-assisted modification. Based on the effort to stabilize the *cis*-stilbenes in their configuration, accordingly substituted five-membered heterocycles were developed. Among those, triazole **4.114** with an IC_{50} of $4.49\ \mu M$ also represents a suitable starting point for the further development of inhibitors.



The indolin-2-one-compound **4.131** showed the highest affinity of all compounds investigated in this work with an IC_{50} of $0.60\ \mu M$. Utilizing a SAR, the significance of individual structural features for the affinity could be determined; in the course of this, positions for the directed further development were also identified. By using the crystal structure of a suitable analogue, it was also possible to determine the binding mode of this substance class, so that computer-assisted methods as well as structure-based drug design can be applied for further optimization. Overall, a number of *hits* with activity against the PIM1 kinase within the single-digit micromolar range were identified in the course of this work. The development of reliable synthesis routes combined with the systematic analysis of the relevant structural motifs also laid the foundation for subsequent efforts to optimize these compounds into high-affinity inhibitors.

1 EINLEITUNG

1.1 Protein-Kinasen - Ein Überblick

Mit der Zulassung von Imatinib (Glivec®, Novartis, **Abb. 1.1**) als erstem Protein-Kinase Inhibitor (PKI) wurde im Jahre 2001 ein sehr erfolgreiches Kapitel der medizinischen Forschung eingeläutet, dessen Errungenschaften die therapeutische Landschaft – vor allem im Bereich der Krebserkrankungen – nachhaltig verändert haben¹. Für die mehr als 500 im menschlichen Genom vorkommenden Protein-Kinasen (PK) sind bis heute über 70 Wirkstoffe als Behandlungsoptionen bei unterschiedlichsten Krankheiten verfügbar, zudem befindet sich eine Vielzahl neuer Substanzen in den verschiedenen Phasen klinischer Erprobung¹⁻⁵. Diese Entwicklung spiegelt sich auch in der Anzahl der neu zugelassenen Arzneimitteln durch die *food and drug administration* (FDA) innerhalb der letzten fünf Jahre wider (**Abb. 1.2**)^{6,7}. In dieser Zeit wurden insgesamt 21 neue PKIs zugelassen, das entspricht einem Zuwachs von 40% bezogen auf die Anzahl der bereits vor 2015 zugelassenen PKIs. In den Jahren 2018 und 2019 waren jeweils mehr als 10% der neu zugelassenen Arzneimittel PKIs. Die Zahlen legen nahe, dass die Klasse der PKIs auch in Zukunft einen wertvollen Beitrag in der Bereitstellung neuer Therapieoptionen leisten wird, zumal noch längst nicht alle physiologischen Interaktionen sowie Zusammenhänge mit Krankheitsgeschehen in Bezug auf PKs erforscht sind.

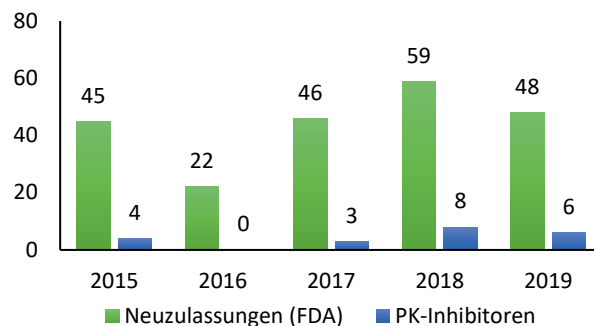
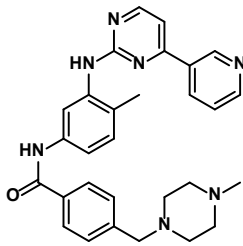


Abb. 1.1: Imatinib (Glivec®), der erste zugelassene PKI¹.

Abb. 1.2: Übersicht über die Anzahl der neu zugelassenen Arzneistoffe durch die FDA (grün), davon PKI (blau), für die Jahre 2015 - 2019^{6,7}.

Ein Grund für die außerordentliche Attraktivität dieser Enzymklasse als *drug-target* ist ihre ubiquitäre Bedeutung für die Transduktion von Signalen in physiologischen Prozessen¹. Fast alle Steuerungs- und Regulationsmechanismen in Zellen beinhalten die Übertragung von Phosphat-Gruppen als Teilschritt, welcher durch die beteiligte Kinase vermittelt wird⁸. Anhand ihrer Substrat-Spezifität lassen sich PKs in verschiedene Gruppen einteilen. So unterscheidet man zwischen Serin/Threonin-, Tyrosin- und Histidin-Kinasen (**Abb. 1.3**)⁸.

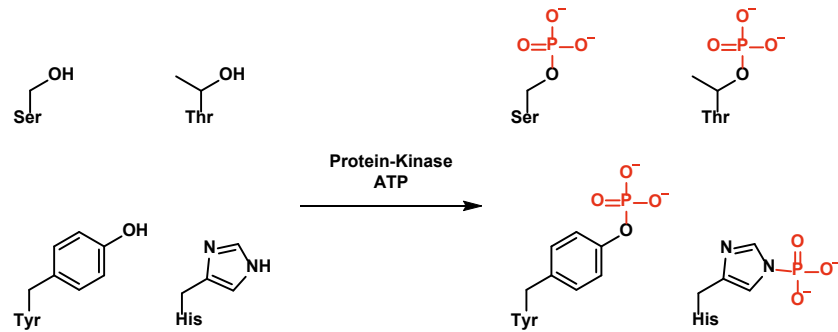


Abb. 1.3: Die Aminosäuren Serin, Threonin, Tyrosin und Histidin können von Protein-Kinasen mittels ATP phosphoryliert werden⁸.

Neben der funktionellen Unterteilung kann auch eine phylogenetische Zuordnung vorgenommen werden (**Abb. 1.4**)⁹. Darin findet sich teilweise die Substrat-Spezifität wieder (Tyrosinkinasen und ähnliche), es sind jedoch auch Untergruppen mit Bezug auf bestimmte Modulatoren vorhanden (Cyclin-abhängige, Mitogen-aktivierte, Calcium/Calmodulin-abhängige Kinasen).

Im Falle der Serin/Threonin- und besonders der Tyrosin-Kinasen ist inzwischen eine große Zahl von Krankheitsbildern bekannt, welche mit einer deregulierten Enzymaktivität assoziiert sind¹⁰. Dabei handelt es sich in den meisten Fällen um Tumorerkrankungen, aber auch für immunologische, entzündliche, degenerative und Infektionskrankheiten sind derartige Zusammenhänge belegt worden^{1,2,11,12}. Histidin-Kinasen spielen eine untergeordnete Rolle im Kontext menschlicher Erkrankungen, da sie ausschließlich außerhalb des Tierreichs vorkommen¹³. Aus diesem Grund sind sie lediglich als Arzneistoffziel zur Therapie bestimmter Pilzinfektionen von Interesse¹⁴. Mit Hinblick auf die große Anzahl an Familienmitgliedern stellt sich unweigerlich die Frage nach der Selektivität von PK-Inhibitoren, da in allen Fällen prinzipiell die gleiche chemische Reaktion vermittelt wird. Ein Vergleich der Selektivitätsprofile bekannter PKIs zeigt, dass eine hohe Selektivität erreicht werden kann, es sind jedoch auch Beispiele mit außerordentlich promiskuitivem Bindeverhalten bekannt (**Abb. 1.5**)¹⁵.

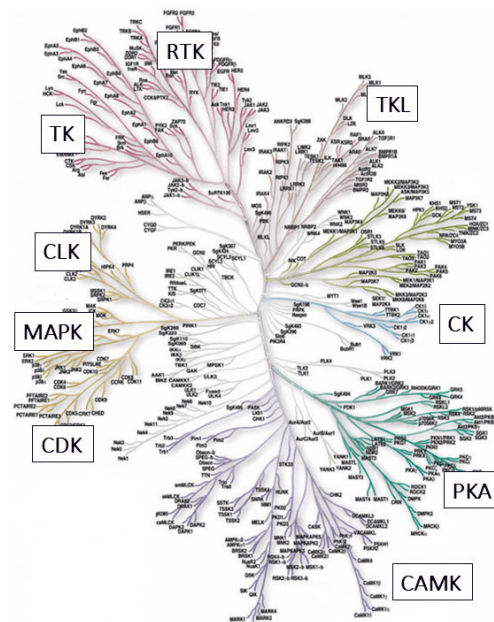


Abb. 1.4: Phylogenetische Einteilung von PKs. Man unterscheidet: Tyrosinkinasen (TK), Rezeptor-Tyrosinkinasen (RTK), Tyrosinkinase-ähnliche (TKL), Casein-Kinasen (CK), Protein-Kinase-ähnliche (PKA), Calcium/Calmodulin-abhängige Kinasen (CAMK), Cyclin-abhängige Kinasen (CDK), Mitogen-aktivierte Kinasen (MAPK) und CDK-ähnliche Kinasen (CLK)⁹.

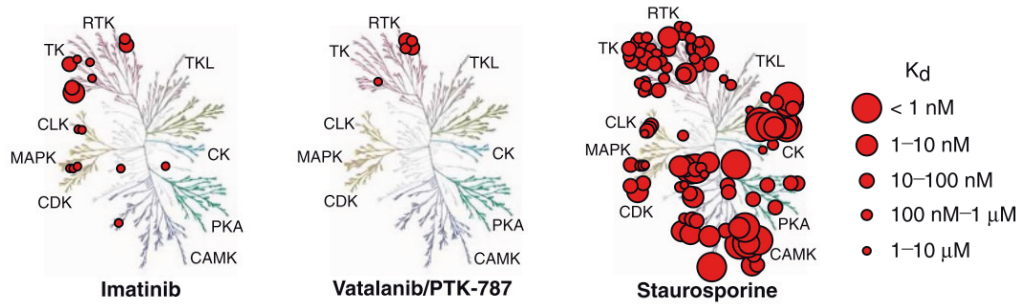


Abb. 1.5: Vergleich des Selektivitätsprofils ausgewählter PKs. Imatinib hemmt hauptsächlich Tyrosinkinasen, jedoch auch Vertreter aus anderen Untergruppen. Vatalanib weist eine sehr gute Selektivität für Rezeptor-Tyrosinkinasen auf. Staurosporin hemmt eine große Anzahl verschiedener Kinasen aus unterschiedlichen Subfamilien (Abb. entnommen aus ¹⁵).

Die Fortschritte in der Differenzierung verschiedener PK-Subtypen und ihrer Funktionen lassen immer detailliertere Eingriffsmöglichkeiten zu, um pathologische Prozesse spezifisch zu adressieren. Aus diesem Grund ist die Suche nach selektiven Inhibitoren für Kinasen mit pathophysiologischer Relevanz eine überaus wichtige Aufgabe der medizinischen Forschung ¹⁶.

1.1.1 Struktur und Funktion von Protein-Kinasen⁸

Mit Blick auf ihre funktionelle Homogenität ist leicht zu erklären, dass PKs einen z. T. hoch-konservierten Aufbau ihrer Proteinstruktur aufweisen. Da üblicherweise Adenosintriphosphat (ATP) als Quelle für die zu übertragene Phosphatgruppe genutzt wird, enthalten alle Kinasen entsprechende Aminosäure-Motive, welche durch die Ausbildung von Wechselwirkungen (z. B. H-Brücken) eine Bindung von ATP in der Nähe der katalytischen Einheit vermitteln können. Auch im grundlegenden Aufbau können wiederkehrende Struktur motive identifiziert werden, die allen Kinasen gemein sind. Eine exemplarische Beschreibung des Aufbaus der Protein-Kinase A (PKA) soll einen generellen Eindruck der Struktur von PKs vermitteln, um auch nachfolgende Erläuterungen zur Auswahl des Zielproteins dieser Arbeit besser einordnen zu können (Abb. 1.6). Die N-terminale Domäne (cyan), welche aus fünf β -Faltblatt-motiven besteht, wird über die als *hinge*-Region bezeichnete Gelenk- oder Scharnierregion (orange) mit der C-terminalen Domäne (grün) verbunden. Diese zeigt einen vorwiegend α -helikalen Aufbau und enthält unter anderem die DFG-Schleife (rot), welche am Mechanismus der Übertragungssequenz beteiligt ist. Für die Übertragung einer Phosphat-

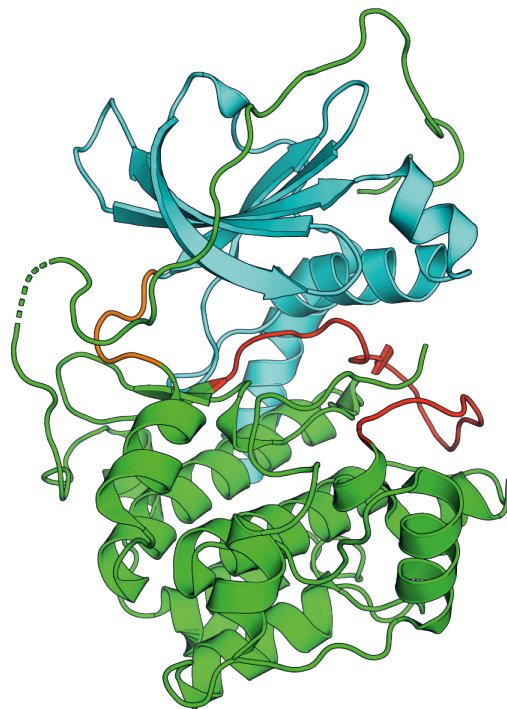


Abb. 1.6: Aufbau der Grundstruktur am Beispiel der PKA (PDB: 3P00¹⁸³, Inhibitor ausgeblendet): N-terminale Domäne (cyan), *hinge*-Region (orange), C-terminale Domäne (grün) mit DFG-Schleife (rot)⁸.

Die DFG-Schleife (rot) ist ein wichtiges Element der Kinasenstruktur, das an der Übertragung einer Phosphatgruppe beteiligt ist. Sie ist Teil der C-terminalen Domäne und wird durch die hinge-Region mit der N-terminalen Domäne verbunden.

Gruppe (am Beispiel der PKA, **Abb. 1.7**) findet zunächst die Bindung von ATP im Bereich der *hinge*-Region statt, welche eine Erkennungssequenz in Form von komplementären H-Brücken-Interaktionspartnern für das enthaltene Adenin aufweist. Die negative Ladung der Phosphat-Gruppen wird durch DFG-vermittelte Koordination (Asp₁₈₄) von Magnesium-Ionen im Bereich zwischen N- und C-terminaler Domäne stabilisiert, gleichzeitig erfolgt dabei eine korrekte Orientierung innerhalb der Bindetasche. Die zu phosphorylierende Aminosäure des Substrates wird durch Interaktion mit der C-terminalen Domäne in Reichweite der γ -Phosphatgruppe fixiert, sodass ein nukleophiler Angriff am Phosphor-Atom erfolgen kann. Das Proton des angreifenden Heteroatoms (Serin/Threonin/Tyrosin = O, Histidin = N) wird bei dem Vorgang durch Asp₁₆₆ übernommen. Die

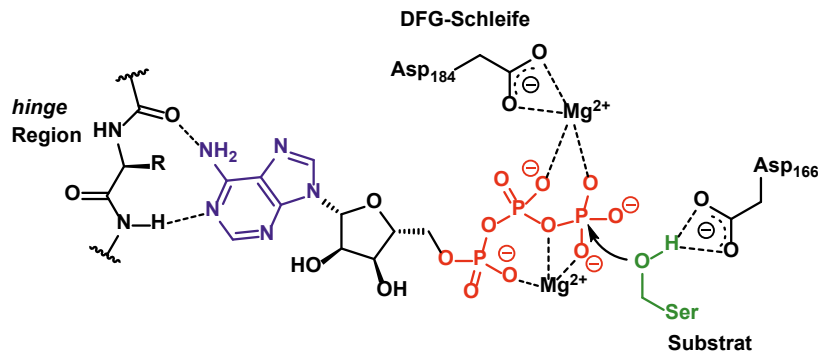


Abb. 1.7: Beispielhafte Darstellung der Übertragung einer Phosphat-Gruppe durch die PKA: Der Adenin-Teil (blau) von ATP geht H-Brücken-Interaktionen mit der *hinge*-Region ein, die Polyphosphat-Kette (rot) wird unter Mitwirkung der DFG-Schleife mit zwei Mg-Ionen stabilisiert und fixiert, sodass ein Substrat-Serin (grün) nukleophil am γ -Phosphat angreifen kann⁶.

räumliche Ausdehnung des Mechanismus-bedingten Interaktionsmusters erklärt den hohen Konservierungsgrad der betroffenen Sequenzbereiche, da das komplexe Netzwerk starke Variationen von Wechselwirkungspartnern nicht ohne weiteres toleriert. Somit stellt sich bei der Suche nach hochselektiven PK-Inhibitoren die Aufgabe, gezielt die kleinen variablen Bereiche der Bindetasche zu adressieren, welche nicht direkt am Funktionsmechanismus beteiligt sind¹⁷.

Ferner ist bekannt, dass die Aktivität von Kinasen in physiologischen Systemen auf vielfältige Weise reguliert wird. Dies kann durch die Interaktion mit Modulatoren (z. B. Cycline) geschehen, doch auch Eigenphosphorylierung spielt häufig eine wichtige Rolle. Im letztgenannten Falle führt die Einführung der geladenen Phosphat-Gruppe aufgrund elektrostatischer Wechselwirkungen zu einer räumlichen Umlagerung innerhalb der Kinase und damit letztendlich zur Ausbildung einer aktiven oder inaktiven Konformation (**Abb. 1.8**). Die strukturellen Unterschiede zwischen diesen Zuständen lassen sich für die Entwicklung selektiver Inhibitoren nutzen, da sich die inaktiven Konformationen verschiedener Kinasen in ihrer Struktur stärker unterscheiden als die jeweiligen aktiven Konformationen¹⁸. Dementsprechend weisen Wirkstoffe, welche die inaktive Konformation einer Kinase adressieren, oft eine deutlich höhere Selektivität auf. Einen ähnlichen Vorteil bieten Inhibitoren mit allosterischem

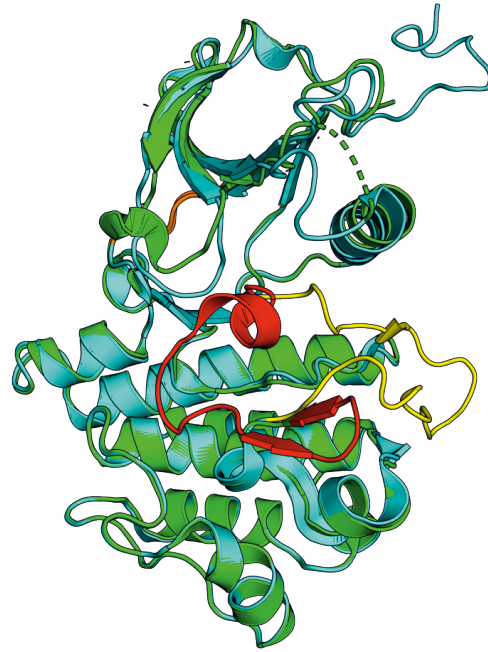


Abb. 1.8: Überlagerung von zwei Strukturen der humanen ABL-Kinase: Die aktive Konformation (cyan, PDB: 2GQG¹⁸⁴) wird aufgrund der Position der DFG-Schleife (gelb) als DFG-*out* bezeichnet, bei der inaktiven Konformation (grün, PDB: 2HYY¹⁸⁵) nimmt die Schleife (rot) die DFG-*in* Position ein (Liganden wurden ausgeblendet)⁸.

Bindungsmodus, jedoch ist die zuverlässige Identifizierung geeigneter Bindetaschen eine enorme Herausforderung, die nicht in jedem Falle erfolgreich bewältigt werden kann^{19–21}. Erschwerend kommt hinzu, dass die Anwendung von PK-Inhibitoren im Zuge standardisierter Pharmakotherapie zur Ausbildung von Mechanismus-bedingten Resistenzen gegen die verwendeten Pharmaka führt, indem für die Bindung des Inhibitors relevante Sequenzbereiche mutieren²¹. Somit stellen sowohl die Suche nach Inhibitoren neuer, noch nicht adressierter Kinasen, als auch die Entwicklung neuer Substanzen für bereits als Arzneistoffziel bekannte PKs, sinnvolle Ziele der medizinischen Entwicklung dar.

1.2 Die Familie der PIM-Kinasen

Die Familie der PIM (*proviral insertion site of Moloney leukemia virus*)-Kinasen besteht aus drei Serin/Threonin-Kinasen (PIM1, 2 & 3), die zur Gruppe der Calmodulin-abhängigen Protein-Kinasen (CAMK) gehören^{22–24}. Bezogen auf alle drei Mitglieder zeigen die PIMs eine Sequenzidentität von 47%, zwischen den einzelnen Mitgliedern liegt diese zwischen 53–66% (**Abb. 1.9**)²⁵. Dies deutet auf ein enges Verwandtschaftsverhältnis hin und ist zugleich ein Hinweis auf mögliche Überlappungen bezüglich der physiologischen Funktionen.

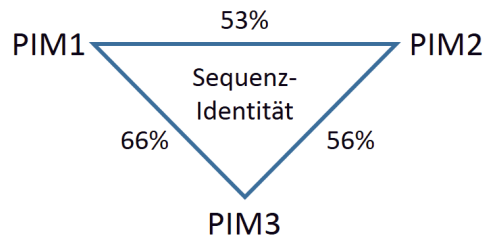


Abb. 1.9: Vergleich der Sequenzidentität zwischen den verschiedenen PIM-Kinase Subtypen. UniProt-IDs: PIM1: P11309; PIM2: Q9P1W9; PIM3: Q86V86²⁵.

Die Entdeckung der Proteinfamilie geht auf Arbeiten von CUYPERS *et al.* aus dem Jahr 1984 zurück, in denen gezeigt wurde, dass die präferentielle Insertion viraler DNA in einen bestimmten Genabschnitt (*pim-1*) zur vermehrten Ausbildung von T-Zell Lymphomen führt²⁶. Dieser Zusammenhang konnte zunächst nur auf genetischer Ebene nachgewiesen werden, da noch nichts über die Natur und Funktion des dort codierten Proteins (PIM1) bekannt war. TELERMAN *et al.* ordneten PIM1 fälschlicherweise der Klasse der Tyrosin-Kinasen zu, was durch SARIS *et al.* später korrigiert wurde^{27,28}. 1995 erfolgte die Identifizierung von PIM2 als funktionelles Analogon zu PIM1; 1998 wurde mit PIM3 (zunächst KID-1) ein weiteres Mitglied der Proteinfamilie entdeckt^{29,30}. Seitdem wurde in zahlreichen Forschungsvorhaben die (patho-)physiologische Bedeutung der PIM-Kinasen immer weiter präzisiert sowie der Versuch unternommen, durch Applikation von Inhibitoren den Verlauf PIM-abhängiger Krankheitsbilder positiv zu beeinflussen. Im Folgenden soll zunächst der heutige Kenntnisstand über das Interaktionsmuster der PIM-Kinasen - insbesondere der PIM1-Kinase - nachgezeichnet werden, anschließend werden die bekannten Implikationen in pathophysiologische Prozesse und die zugehörigen Krankheitsbilder erläutert. Schließlich wird auf die besondere Bedeutung der PIM1-Kinase im medizinischen Kontext eingegangen, sowie eine Übersicht über den Stand der Entwicklung im Bereich der PIM1-Inhibitoren gegeben.

1.2.1 Physiologische Funktionen

Die drei PIM-Kinasen werden in vielen Geweben geringfügig ubiquitär exprimiert, es sind jedoch Unterschiede bei den Konzentrationen der verschiedenen PIM-Mitglieder vorhanden. So sind höhere Spiegel der PIM1-Kinase in Thymus, Testis, Uterus und Brustgewebe sowie Herz und Lunge nachweisbar, PIM2 ist hingegen hauptsächlich in Gehirn und Thymus zu finden und PIM3 wiederum in Brust, Niere und Gehirn^{30,31}. Ähnliche Konzentrationen der Enzyme sind in Lymphorganen und Knochenmark vorhanden, zudem synchron erhöhte Level in Cytokin-stimulierten Zellen^{23,31,32}. Vor allem in Reaktion auf die Behandlung mit Interleukinen (IL-2/3/7), Interferonen (IFN- α/γ), Granulozyten-Makrophagen Kolonie-stimulierendem Faktor sowie Erythropoietin (EPO) sind

erhöhte PIM-Konzentrationen nachweisbar, doch auch eine Unterversorgung mit Sauerstoff (Hypoxie) führt zu einer verstärkten Expression von PIM1 und PIM2^{23,29,33}. Eine Besonderheit der PIM-Kinasen ist, dass ihr Transkriptionslevel direkt mit der enzymatischen Aktivität korreliert. Insofern muss man davon ausgehen, dass die regulatorische Kontrolle der PIM-Aktivität maßgeblich auf transkriptioneller Ebene stattfindet und nicht durch post-translationale Modifikationen oder Interaktionen vermittelt wird^{34,35}.

Eine wichtige Rolle in diesem Zusammenhang spielt der JAK/STAT-Signalweg (JAK = *just another kinase*, Januskinase; STAT = *signal transducers and activators of transcription*), welcher einen direkten Einfluss auf die zelluläre Konzentration der PIM1-Kinase hat^{23,24,36}. Bei diesem Signalweg führt die Bindung von extrazellulären Effektoren (z. B. Cytokine) an einen membranständigen, JAK-assoziierten Rezeptor zur Dimerisierung desselben, was seine Autophosphorylierung und damit Aktivierung nach sich zieht. In der Folge können STATs binden und werden ebenfalls phosphoryliert, wodurch die Bildung von aktiven STAT-Dimeren und deren Translokation in den Zellkern vermittelt wird – dort fungieren diese als Transkriptionsfaktoren (**Abb. 1.10**)^{24,37}. Für die Effektoren STAT-3 und STAT-5 ist bekannt, dass sie eine vermehrte Expression der PIM1-Kinase bewirken^{37,38}. Gleichzeitig aktiviert PIM1 *suppressor of cytokine signalling 1 und 3* (SOCS1/3), welche ihrerseits STAT-5 hemmen und somit einen negativen *feedback loop* für die Expression der PIM1-Kinase bilden³⁹.

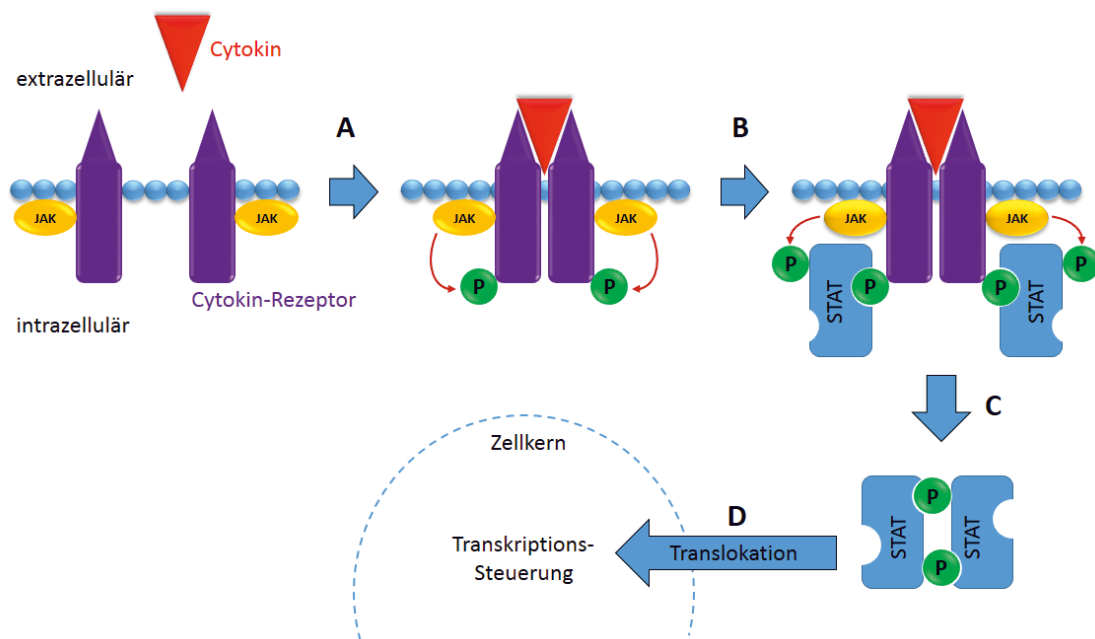


Abb. 1.10: Signaltransduktion über den JAK/STAT-Signalweg: (A) Die Bindung eines Cytokins bewirkt eine Dimerisierung von JAK-assoziierten Cytokin-Rezeptoren. (B) Durch Autophosphorylierung des Rezeptors wird die Anlagerung von STAT sowie dessen Phosphorylierung ermöglicht. (C) Das phosphorylierte STAT bildet aktivierte Dimere, welche (D) in den Zellkern transportiert werden und dort als Transkriptionsfaktoren wirken^{24,37}.

Neben der Transkriptionskontrolle bestimmt auch die Lebensdauer der Biomoleküle im physiologischen Milieu der Zelle ihre Aktivität. Hier unterliegen sie dem Abbau durch das Proteasom, sodass ein Gleichgewicht von Neubildung und Degradation weitestgehend konstante Proteinlevel bewirkt. Eine Störung dieses Equilibriums tritt z. B. auf, wenn ein Protein dem Abbau entzogen wird,

was einen Anstieg der Proteinkonzentration und damit oft die Entstehung krankhafter Veränderungen zur Folge hat. Für PIM1 ist bekannt, dass es durch Bindung an *heat shock protein 90* (HSP 90) vor dem proteasomalen Abbau geschützt wird, dementsprechend kann ein verstärktes Auftreten dieser Interaktion eine höhere Halbwertszeit und damit erhöhte PIM1-Level verursachen⁴⁰. Auf der anderen Seite reduziert eine Dephosphorylierung von PIM1 durch die Protein Phosphatase 2A (PP2A) die Halbwertszeit der Kinase - Grund dafür ist eine Sensibilisierung für die Proteasom-vermittelte Degradation⁴¹.

Insgesamt darf davon ausgegangen werden, dass die PIM-Kinasen keine überlebenskritische Funktion ausüben, da bei Mäusen mit *knockout* aller drei Kinasen nur eine reduzierte Körpergröße, aber kein pathologischer Phenotyp festgestellt werden konnte⁴². Es sind bisher funktionelle Zusammenhänge mit der Regulation von Transkriptions-Aktivität, dem Ablauf des Zellzyklus sowie der Steuerung der Apoptose bekannt, zudem konnte eine Reihe von direkten Interaktionspartnern identifiziert werden.

1.2.1.1 Einfluss auf Transkriptions-Modulatoren

Ein wichtiger Interaktionspartner der PIM-Kinasen ist c-MYC (zelluläres MYC, Myelocytomastose), ein Transkriptionsfaktor und Proto-Onkogen, dessen Deregulation mit einer Reihe von Tumorerkrankungen in Zusammenhang gestellt werden konnte^{36,43}. c-MYC zeigt eine starke Kooperativität mit PIM1 in Bezug auf ihr onkogenes Potential, sodass transgene Mäuse mit artifiziell erhöhter PIM1- und c-MYC-Expression schon im Uterus prä-B-Zell Lymphome ausbilden⁴⁴. Ein Grund für diese Wechselwirkung liegt darin, dass c-MYC von PIM1 und PIM2 phosphoryliert wird, was die Lebensdauer des Transkriptionsfaktors erheblich erhöht und damit seine transkriptionsfördernde Wirkung verstärkt⁴³. C-MYC ist eingebunden in ein regulatorisches Netzwerk aus vielen Interaktionspartnern und nimmt darüber Einfluss auf das Wachstum, die Vermehrung und den Metabolismus von Zellen, weiterhin spielt es eine Rolle bei der Vermittlung von Zelltod oder -überleben⁴⁵. Erhöhte c-MYC- und PIM1-Spiegel sind assoziiert mit einer verringerten Apoptose und erhöhter Zell-Proliferation, was einen stimulierenden Effekt auf den Ablauf des Zellzyklus nahe legt⁴⁶. Weiterhin ist bekannt, dass PIM-1 von c-MYC für die Phosphorylierung von z. B. Histon H3 rekrutiert werden kann, was die Transkriptionsaktivität an diesem Chromatin-Locus erheblich steigert⁴⁷. Durch derartige Interaktionen verstärkt PIM-1 die Transkription von etwa 20% der c-MYC-abhängigen Gene und unterstützt damit dessen proliferationsfördernde Wirkung.

Ein weiterer Verknüpfungspunkt zwischen PIM1-Aktivität und Transkriptionssteuerung sind die *forkhead* Transkriptionsfaktoren (FOXO), welche eine pro-apoptotische Wirkung vermitteln. Sie werden ebenfalls durch PIM1 phosphoryliert, was eine Exklusion aus dem Zellkern zur Folge hat und damit ihre transkriptionssteuernde Wirkung unterbindet⁴⁸. Die Mitglieder dieser Familie bewirken die Expression von pro-apoptotischen Faktoren (z. B. BIM, FAS Ligand) und Regulatoren des Zellzyklus (z. B. p27^{Kip1}, s. Kapitel 1.2.1.2). Durch Hemmung von FOXO werden demnach die Proliferation gefördert sowie die Apoptose-Neigung unterdrückt.

1.2.1.2 Einfluss auf den Zellzyklus

Der Zellzyklus ist ein schematisches Modell für die Beschreibung der Phasen, welche eine Zelle im Zuge ihrer Teilung durchläuft. Nach erfolgter Zellteilung befindet sich die Zelle zunächst in einer *gap*-Phase (G_1 -Phase), während der die Duplikation der DNA in der nachfolgenden Synthese-Phase (S-Phase) vorbereitet wird. Im Anschluss an die erfolgreiche Kopie der DNA erfolgt eine weitere *gap*-Phase (G_2 -Phase), welche der Vorbereitung der mitotischen Kernteilung (M-Phase) dient. Auf diese folgt mit der nächsten G_1 -Phase der erneute Durchlauf des Zyklus⁴⁹. Chronologie und Geschwindigkeit dieser Phasen werden von zelleigenen Systemen streng reguliert, um optimale Bedingungen für die geordnete Vermehrung von gesunden Zellen zu schaffen. Die PIM-Kinasen beschleunigen den Ablauf des Zellzyklus und damit auch die Proliferationsgeschwindigkeit der betroffenen Zellen⁵⁰. Zudem beeinträchtigen sie die Verteilung der Chromosomen durch den Spindelapparat während der mitotischen Kernteilung und begünstigen damit das Auftreten von Polyploidie und chromosomalen Schäden⁵¹. Diese Zusammenhänge sind zum Teil durch die Interaktion mit entsprechenden Transkriptionsfaktoren erklärbar, es sind aber auch direkte Wechselwirkungen mit Bestandteilen der entsprechenden Regulationssysteme bekannt (Abb. 1.11).

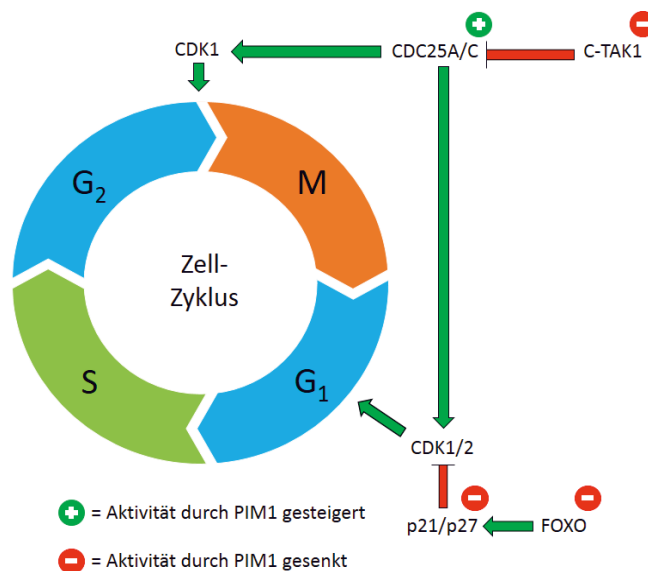


Abb. 1.11: Übersicht des Einflusses der PIM1-Aktivität auf die Regulation des Zellzyklus. Durch Hemmung von FOXO und p21/p27 enthemmt PIM1 die Aktivität von CDK1/2, was die Übergänge aus der G_1 - in die S-Phase sowie aus der G_2 - in die M-Phase beschleunigt. Die Aktivierung von CDC25A/C durch direkte Phosphorylierung und Hemmung des Regulators C-TAK1 verstärkt diesen Effekt^[50-61].

Zu diesen zählen $p21^{Cip1/WAF1}$ (p21) und $p27^{Kip1}$ (p27), zwei Proteine mit hemmender Wirkung auf die *cyclin-dependent* Kinasen 1 und 2 (CDK1/2)^{52,53}. CDKs deaktivieren durch Phosphorylierung z. B. das *retinoblastoma tumor suppressor protein* (pRB), was eine enthemmende Wirkung auf den Ablauf des Zellzyklus hat. p21 und p27 werden ihrerseits durch den *tumor suppressor p53* (p53) reguliert, dessen Aktivität der genetischen Stabilität der Zelle dient⁵⁴. Nach der Mitose erkennt p53 DNA-Schäden und kann als Reaktion einen p21/p27-vermittelten Arrest des Zellzyklus in der G_1 -Phase erwirken. Während dieser Zeit kann die beschädigte DNA durch die zelleigenen Reparaturmechanismen ersetzt werden. Demzufolge können p21 und p27 ebenfalls als Regulatoren für einen geordneten Zellzyklus und genetische Stabilität aufgefasst werden. PIM1 ist in der Lage, p21 und p27 zu phosphorylieren

und damit ihren proteasomalen Abbau zu beschleunigen^{48,50,55–57}. Auf diesem Wege wird ein unkontrollierter Übergang aus der G1- in die S-Phase vermittelt, was nicht nur eine Erhöhung der allgemeinen Proliferationsgeschwindigkeit zur Folge hat, sondern auch die Entstehung und Konservierung von DNA-Schäden begünstigt.

Eine weitere Verbindung zwischen der PIM1-Aktivität und dem Ablauf des Zellzyklus stellt die Familie der *cell division cycle 25* Proteine dar (CDC25A-C). Als Phosphatasen katalysieren sie die Abspaltung von inhibitorischen Phosphat-Resten an CDKs und fördern somit deren Aktivität³⁶. Dies ist von besonderer Bedeutung für den Übergang aus der G₂-Phase in die M-Phase, stellt die CDC25-vermittelte Aktivierung der CDK1 doch einen Checkpoint für die irreversible Auslösung der Mitose dar⁵⁸. Durch PIM1-vermittelte Phosphorylierung von CDC25A/C wird deren katalytische Aktivität direkt verstärkt, was eine reduzierte Kontrolle und damit einen schnelleren Eintritt in die Mitose-Phase nach sich zieht⁵⁹. Zudem hemmt PIM1 die Aktivität der CDC25C-assoziierten Kinase 1 (C-TAK1), welche inhibitorische Kontrolle über die CDC25C-Aktivität ausübt^{60,61}.

Weiterhin ist bekannt, dass PIM1 bei der Mitose mit den Bestandteilen des Spindelapparates interagiert. Dazu gehören das *nuclear mitotic apparatus* (NuMa) Protein und *heterochromatin-associated protein 1β* (HP1β), welche durch PIM1 phosphoryliert werden, sowie die Motorproteine Dynein und Dynactin^{62,63}. Es konnte gezeigt werden, dass sich PIM1 während der Mitose an den entstehenden Spindelpolen konzentriert, während es sonst in Zellkern und Zytoplasma lokalisiert ist. Dies deutet auf eine Rolle von PIM1 in der funktionellen Regulation des Ablaufs der Mitose hin. Zudem lässt sich dadurch erklären, warum eine Überexpression von PIM1 mit dem vermehrte Auftreten polyploider Zellen und einer Beeinträchtigung mitotischer *checkpoint*-Mechanismen einhergeht⁵¹.

Zusammengenommen vermittelt insbesondere PIM1 einen beschleunigten Ablauf des Zellzyklus und damit eine erhöhte Proliferationsrate. Dies geschieht durch Modulation der Aktivität zelleigener Regulatoren, welche Geschwindigkeit und Reihenfolge der Phasen des Zellzyklus kontrollieren. Zeitgleich begünstigt die PIM-vermittelte Unterdrückung von verschiedenen *checkpoint*-Systemen zwischen den einzelnen Phasen das Auftreten von DNA-Schäden während Replikation und Kernteilung, was die Wahrscheinlichkeit für die Entstehung entarteter Zellen verstärkt.

1.2.1.3 Einfluss auf die Apoptose

Auch im Bereich der Apoptose wurden neben der Beeinflussung durch Transkriptionsfaktoren direkte Interaktionspartner der PIM-Kinasen identifiziert. Zu diesen gehört *Bcl-xl/Bcl-2-associated death promoter* (BAD), ein pro-apoptotischer Faktor aus der Familie der *B-cell lymphoma 2* (Bcl-2) Proteine⁶⁴. Die Mitglieder dieser Familie sind wichtige Regulatoren der mitochondriell vermittelten Apoptose, dabei üben die einzelnen Mitglieder jeweils eine pro- (pro-A) oder anti- (anti-A) apoptotische Funktion aus. Zentrale Komponente der Regulation ist das *Bcl-2 associated protein X* (BAX, pro-A), welches unter normalen Bedingungen als Heterodimer gebunden an Bcl-2 (anti-A) oder Bcl-XL (anti-A) vorliegt und dadurch deaktiviert wird (**Abb. 1.12**)⁶⁵. BAD ist in der Lage, BAX aus diesen Heterodimeren zu verdrängen und damit zu aktivieren. Dieses bildet daraufhin oligomere Poren in der Mitochondrien-Membran aus, durch welche Apoptose-auslösende Faktoren wie Cytochrom c oder Smac/Diablo in das Zytoplasma gelangen⁶⁶. Die Permeabilisierung der äußeren Mitochondrien-Membran (*mitochondrial outer membrane permeabilization*, MOMP) wird als Schlüsselement der mitochondriell vermittelten Apoptose angesehen⁶⁷.

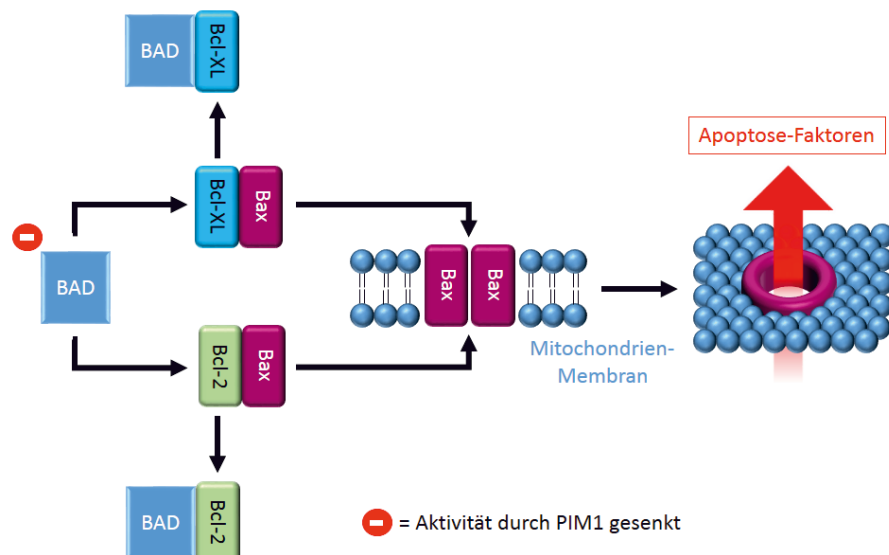


Abb. 1.12: Regulation der mitochondriell vermittelten Apoptose durch die Proteine der Bcl-2 Familie. BAD aktiviert BAX durch Verdrängung aus inaktiven Heterodimeren mit Bcl-2 und Bcl-XL. Daraufhin lagert sich BAX in die äußere Mitochondrien-Membran ein und bildet dort oligomere Poren (MOMP). Durch die so permeabilisierte Membran gelangen Apoptose-vermittelnde Faktoren aus den Mitochondrien in das Zytoplasma und leiten dort den regulierten Zelltod ein. Die PIM-vermittelte Phosphorylierung deaktiviert BAD, was die Auslösung von Apoptose erschwert⁶⁵.

Alle drei PIM-Kinasen hemmen durch direkte Phosphorylierung von BAD dessen Aktivität und wirken so einer Auslösung von MOMP und damit der Apoptose entgegen⁶⁸⁻⁷¹. Auf diesem Wege beeinträchtigen sie die Fähigkeit der Zelle, als Reaktion auf genetische Schäden oder unnatürliche Deregulation den kontrollierten Zelltod einzuleiten, was die Bildung von Tumor-Zellen und das Auftreten entsprechender Krankheitsbilder begünstigt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Auswirkungen der Aktivität von PIM-Kinasen keineswegs unidirektional sind, sondern durch ein Netzwerk von funktionell miteinander verknüpften *downstream*-Effektoren vermittelt werden. In der Gesamtwirkung beschleunigt vor allem PIM1 den Zellzyklus und erschwert den korrekten Ablauf von DNA-Reparatur und Kernteilung, gleichzeitig

wird die Auslösung der Apoptose unterdrückt. Beide Effekte fördern die Bildung entarteter Zelllinien und bieten damit rationale Erklärungen für das onkogene Potential der PIM-Kinasen. Zugleich unterstreicht die Identifikation der PIM1 als zentrales Schlüsselement dieser Signalkaskaden ihr Potential als *drug target* zur Behandlung von Tumorerkrankungen. Es soll an dieser Stelle aber betont werden, dass die hier gezeigten Zusammenhänge das Interaktom der PIM-Kinasen nicht erschöpfend, sondern lediglich Ausschnitte daraus beschreiben. Die Erforschung weiterer Interaktionspartner und Zusammenhänge ist wünschenswert, um die Rationalen zur therapeutischen und diagnostischen Nutzung der PIM-Kinasen weiter zu verbessern.

1.2.2 Pathophysiologische Einordnung

Aufgrund der kritischen Rolle von PIM-Kinasen bei der Kontrolle essentieller Zellfunktionen wie Zellzyklus, Proliferationsgeschwindigkeit und Apoptose ist es nicht verwunderlich, dass eine dysregulierte Kinase-Aktivität in vielen Fällen mit der Entstehung und dem Verlauf von unterschiedlichen Krankheitsbildern verknüpft ist. Dies bezieht sich vor allem auf diverse Krebserkrankungen, aber auch in Bezug auf Alzheimer Demenz wird eine Rolle der PIM-Kinasen diskutiert.

1.2.2.1 PIM-Kinasen und Krebserkrankungen

Viele Krebserkrankungen konnten bereits mit einer übermäßigen PIM-Aktivität in Zusammenhang gebracht werden, so z. B. Prostata^{-72,73}, Magen⁻⁷⁴, Pankreas^{-75,76} und Kopf-Hals-Tumore^{77,78} sowie Lymphome und Leukämien⁷⁹. Die Kinasen PIM1 und PIM2 treten dabei vor allem in Zusammenhang mit malignen hämatologischen Erkrankungen und Prostatakrebs auf, während PIM3 eher mit soliden Tumoren wie Leber- und Pankreaskrebs assoziiert ist^{71,80}. Diese Verteilung weist auf Unterschiede in der Funktion der drei Subtypen hin, es werden aber auch funktionelle Überschneidungen angenommen. Unabhängig davon sind für PIM1 die Zusammenhänge mit Tumorerkrankungen über alle Klassifikationen am besten untersucht.

Unter anderem konnte belegt werden, dass PIM1 durch Regulation des *chemokine receptor 4* (CXCR4) einen stimulierenden Einfluss auf die Migration und Invasionsfähigkeit von hämatologischen Stammzellen nimmt, was sich auch auf entsprechende Tumorzellen auswirkt⁸¹. Die Phosphorylierung von CXCR4 durch PIM1 sorgt für eine effizientere Wiederverwertung und damit höhere Konzentration des Rezeptors auf der Zelloberfläche, wohingegen eine vergleichbare Aktivität für PIM2/3 nicht nachweisbar war. Die Oberflächen-Expression von CXCR4 wird als prognostischer Faktor in die Bewertung der akuten myeloiden Leukämie (AML) einbezogen, wobei eine höhere CXCR4-Expression mit einer schlechteren Verlaufsprognose verknüpft ist⁸². Auf diesem Weg ist eine Beteiligung von PIM1 an der Ausbildung klinisch schwerwiegenderer Verläufe bei AML denkbar.

PIM2 ist seinerseits besonders in Tumorerkrankungen relevant, welche auf B-Zellen als Vorläufer zurückgehen⁸³. Zu diesen zählen unter anderem die chronische lymphatische Leukämie (CLL), das *diffuse large B-cell lymphoma* (DLBCL) und das Mantelzelllymphom (MCL)^{84,85}. Der Grund dafür ist die Interaktion mit *eukaryotic initiation factor 4E-binding protein 1* (4E-BP1), welches durch PIM2 phosphoryliert wird und dann seine steuernde Wirkung auf die Translation nicht mehr ausüben kann⁸⁶. Unter diesen Umständen kommt es zu einer unkontrollierten Herstellung onkogener Proteine, was die Entstehung von Krebszellen begünstigt⁸⁷.

Eine wichtige Rolle scheinen die PIM-Kinasen auch bei der Resilienzbildung von Tumoren unter hypoxischen Bedingungen zu spielen, z. B. während der Behandlung mit Angiogenese-hemmenden Wirkstoffen. So konnte nachgewiesen werden, dass es bei Hemmung des *vascular endothelial growth factor* (VEGF) und der dadurch ausgelösten Unterversorgung mit Sauerstoff zu einer gesteigerten Expression der PIM1-Kinase in Tumorgewebe kommt⁸⁸. Es scheint sich um einen Resistenzmechanismus zu handeln, der das Überleben der Tumorzellen unter sauerstoffarmen Bedingungen gewährleistet und primär über den *hypoxia-inducible factor* (HIF)-1 vermittelt wird. Eine gleichzeitige Inhibition der PIM-Aktivität in hypoxischen Tumorzellen verhindert die Bildung von HIF-1 und sorgt für eine Akkumulation reaktiver Sauerstoffspezies (ROS), was in der Konsequenz zu einem selektiven Absterben des Tumorgewebes führt³³.

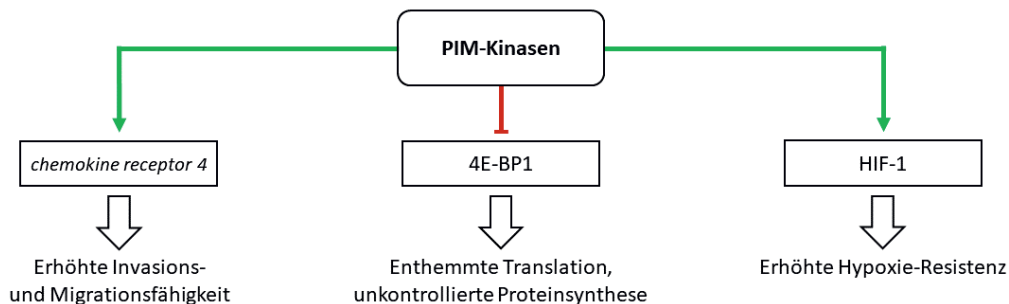


Abb. 1.13: Beispiele für die Beeinflussung der Entstehung und Ausprägung von Tumorerkrankungen durch PIM-Kinasen.

Weiterhin konnte ein Zusammenhang zwischen PIM1 und der *Helicobacter pylori*-vermittelten Entstehung von Magenkrebs hergestellt werden. Es wurde gezeigt, dass bei einer *H. pylori*-Infektion von Magenschleimhautzellen in diesen die Expression von PIM1 gesteigert wird⁸⁹. Diese Wechselwirkung bietet einen möglichen Erklärungsansatz für die Beteiligung von *H. pylori* an der Entstehung von Magenschleimhautkarzinomen und legt damit die Erforschung von PIM-Inhibitoren als therapeutische Option in diesem Zusammenhang nahe.

Ferner wurde die Eignung von PIM1 als Biomarker für bestimmte Krebsarten und zur Abgrenzung von benignen Gewebeanomalien nachgewiesen⁹⁰. Zuverlässige Verlaufsprognosen für Tumorerkrankungen anhand der PIM1-Aktivität sind jedoch bisher nicht möglich. Bei manchen Untersuchungen zu Prostata- und Pankreaskrebs waren niedrigere Expressionslevel von PIM1 mit einer ungünstigen Verlaufsprognose verknüpft⁷⁶, andere Studien kommen zu dem Ergebnis, dass hohe PIM1-Level für die Progression von Prostatakarzinomen eine Rolle spielen⁹¹. In einem Vergleich von zwei unterschiedlichen B-Zell Lymphom-Arten mit stark unterschiedlicher 5-Jahres Überlebensrate wurde vornehmlich in der Gruppe mit schlechter Verlaufsprognose eine Überexpression von PIM1 festgestellt⁹², was auch für die klinische Prognose bei MCL zutreffend war⁹³. Insgesamt kann die Bedeutung der Kinase-Aktivität für den klinischen Verlauf von Krebserkrankungen anscheinend nicht generalisiert werden, sondern muss in Bezug zur jeweiligen Gewebeart bewertet werden. Es mehren sich jedoch die Beispiele, bei denen eine vermehrte PIM-Aktivität auch mit einem schlechteren klinischen Verlauf der Erkrankung einhergeht.

Zusammengenommen sind für viele Tumorarten statistische Zusammenhänge mit dem Auftreten deregulierter PIM-Aktivität belegt. In einigen Krankheitsbildern konnte die mechanistische

Beteiligung der PIM-Kinasen an der Krankheitsentstehung erklärt werden, jedoch ist in vielen Fällen noch keine genaue Einordnung der PIM-Funktion in die Entstehung oder den Verlauf der betreffenden Krebserkrankungen möglich. Untersuchungen an Modellen mit katalytisch inaktivem PIM1-Protein deuten zudem darauf hin, dass das onkogene Potential teilweise unabhängig von der katalytischen Funktion besteht⁹⁴. Eine weitere Erforschung der zugrundeliegenden Zusammenhänge und Mechanismen könnte dabei helfen, das Potential der PIM-Kinasen als Biomarker und Therapieoption im Zuge von Tumorerkrankungen besser nutzbar zu machen.

1.2.2.2 PIM-Kinasen und Alzheimer

Neben ihrer Bedeutung für Krebserkrankungen wird die PIM1-Kinase seit einiger Zeit auch mit der Alzheimer-Demenz (AD) in Verbindung gebracht. So konnte unter Gabe eines PIM1-Inhibitors eine Verbesserung kognitiver Parameter in einem AD-Mausmodell beobachtet werden⁹⁵. Dieser Effekt wurde auf eine Beeinflussung der proteasomalen Aktivität zurückgeführt, welche unter den pathologischen Bedingungen des AD-Modells vor allem in den betroffenen Hirnregionen beeinträchtigt ist⁹⁶. Bisher konnten diese Ergebnisse aber anscheinend nicht an menschlichen Zellsystemen für Alzheimer belegt werden, was möglicherweise an der - besonders bei AD - eingeschränkten Übertragbarkeit von Ergebnissen aus Tiermodellen auf das humane Krankheitsgeschehen liegt⁹⁷. Insgesamt muss man leider feststellen, dass weder eine Eingliederung der PIM-Funktion in die pathologischen Zusammenhänge der AD beim Menschen, noch ein Nachweis für die positive Beeinflussung des Krankheitsverlaufes durch PIM-Inhibition bisher gelungen ist. Es bleibt daher abzuwarten, ob die Modulation der PIM1-Aktivität tatsächlich einen Beitrag zur Therapie bei AD leisten kann.

1.2.3 Struktur und *druggability*

Wie im vorangegangenen Kapitel ausgeführt wurde, ist die PIM1-Kinase aus pathophysiologischer Sicht ein äußerst interessantes Arzneistoffziel. Zugleich stellt sich die Frage, wie eine ausreichende Selektivität gegen andere PKs erzielt werden kann. Tatsächlich weist die PIM1-Kinase einige strukturelle Besonderheiten auf, welche für das Design selektiver Moleküle genutzt werden können. Ihr grundsätzlicher Aufbau entspricht zunächst dem Bauplan aller Kinasen (**Abb. 1.6**, s. Kapitel 1.1.1): Eine *N*-terminale Domäne wird durch eine *hinge*-Region mit dem C-terminalen Teil des Proteins verknüpft, durch die Auffaltung der zwei Domänen entsteht im Bereich der *hinge*-Region eine Bindestelle für ATP. Die Bindung des Substrat-Proteins erfolgt an der C-terminalen Domäne, dadurch wird die zu phosphorylierende Aminosäure im Bereich der ATP-Bindetasche und DFG-Schleife fixiert, was die DFG-vermittelte Übertragung der Phosphatgruppe ermöglicht.

Eine Besonderheit der PIM1-Kinase liegt in der Struktur ihrer *hinge*-Region. Allgemein ist keine große Übereinstimmung der Sequenzen zwischen den verschiedenen PKs feststellbar, wie exemplarisch am Vergleich mit drei weiteren Vertretern dieser Enzymklasse gezeigt wird (**Tab. 1.1**). Die Bindung von ATP wird allerdings durch Atome der Hauptkette (*backbone*) vermittelt, deren Anordnung trotz unterschiedlicher Sequenzmotive über die verschiedenen Kinasen konserviert ist.

Tab. 1.1: Vergleich der Sequenz der *hinge*-Region verschiedener Kinasen.

Kinase (PDB-Code)	<i>hinge</i> -Sequenz						Positionen
PIM1(1XQZ)	Glu	Arg	Pro	Glu	Pro	Val	121-126
PKA(3POO)	Glu	Tyr	Val	Pro	Gly	Gly	121-126
ABL (2G2I)	Glu	Phe	Met	Thr	Tyr	Gly	316-321
PDK1 (4RRV)	Ser	Tyr	Ala	Lys	Asn	Gly	160-165

Bei PIM1 wird durch das Vorhandensein von zwei Prolinen die ATP-Bindetasche räumlich geweitet, gleichzeitig bewirkt diese Änderung ein verändertes Interaktionsmuster bei der Ausbildung von H-Brücken²³. Normalerweise stehen für die Bindung von ATP ein Carbonyl-Sauerstoff (Akzeptor) und ein Peptid-NH (Donor) aus dem *backbone* zur Verfügung (**Abb. 1.14**).

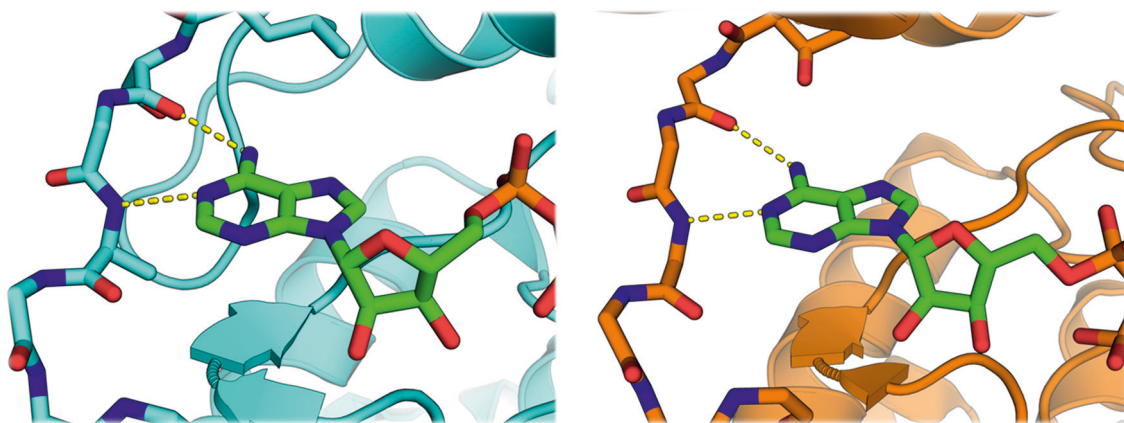


Abb. 1.14: Übliches Interaktionsmuster der *hinge*-Region von PKs mit ATP-Mimetika am Beispiel von PDK1 (links, PDB: 4RRV⁹⁸) und ABL (rechts, PDB: 2G2I⁹⁹): Die Amino-Gruppe des Adenosins bildet eine H-Brücke zu einem *backbone*-Carbonyl aus, der benachbarte Stickstoff des Purin-Ringes dient als Akzeptor für eine H-Brücke mit einem *backbone*-NH (H-Brücken in gelb).

Im Fall von PIM1 besetzt ein Prolin (Kreis) die Position des H-Brücken-Donors, kann aufgrund seiner besonderen Struktur aber nicht als solcher fungieren (**Abb. 1.15**). Aus diesem Grund fehlt diese Wechselwirkung bei der Bindung von ATP in PIM1, was sich auch in einer reduzierten Affinität für ATP niederschlägt¹⁰⁰. Zugleich gewinnen dadurch andere Wechselwirkungen an Bedeutung, da die Position des ATPs in der Bindetasche flexibler wird.

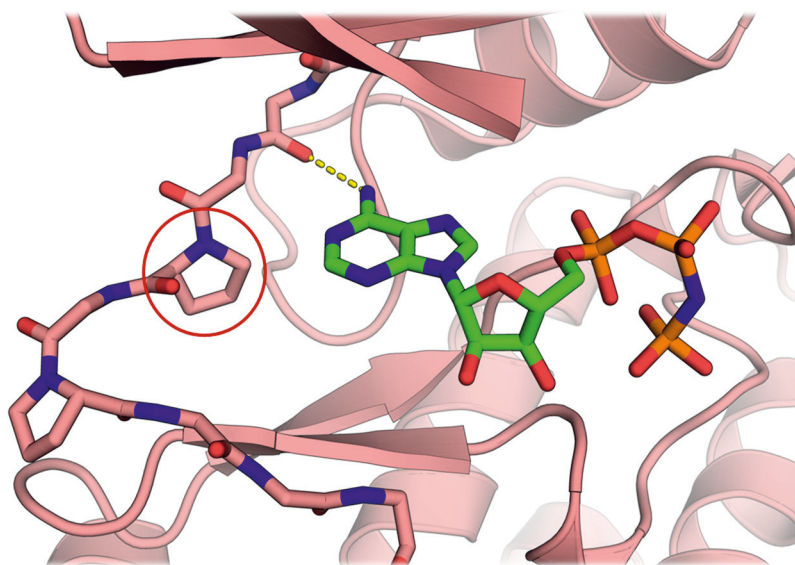


Abb. 1.15: Interaktionsmuster der *hinge*-Region von PIM1 mit einem ATP-mimetischem Liganden (PDB: 1YXT¹⁰²): Die Insertion des Prolins (Kreis) erlaubt keine Ausbildung einer H-Brücke zum N1-Purin-Stickstoff (H-Brücken in gelb).

Dieser besondere Aufbau der ATP-Bindetasche bietet optimale Voraussetzungen für die strukturbasierte Entwicklung selektiver Inhibitoren. Um die Wechselwirkungen in der Tasche noch besser nachvollziehen und ausnutzen zu können, wurde sie in verschiedene Bereiche eingeteilt, welche sich z. T. an den Bestandteilen des natürlichen Substrates orientieren¹⁰¹. Beim rationalen Design von Inhibitoren können die Bereiche durch Struktur motive mit komplementärer Polarität gezielt adressiert werden (**Abb. 1.16**).

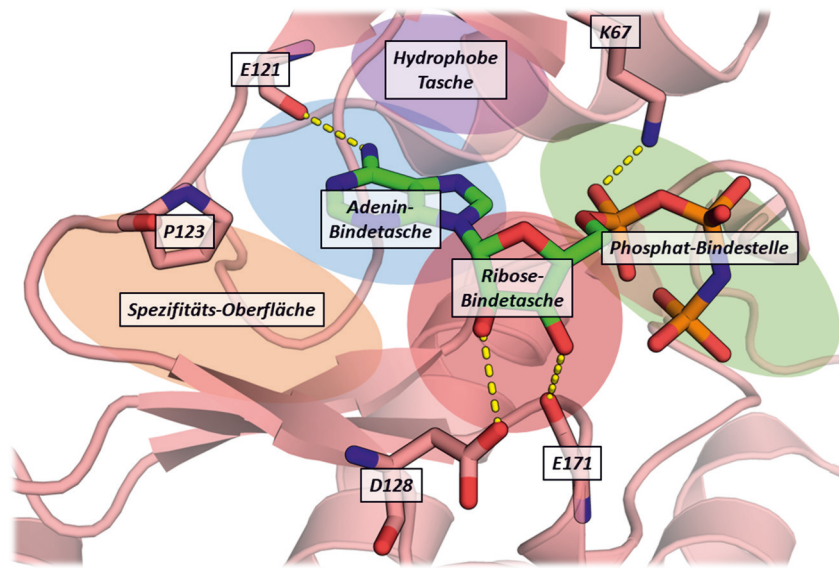


Abb. 1.16: Schematische Einteilung der Bindetasche von PIM1 anhand einer Struktur mit gebundenem ATP-Analogon (PDB: 1YXT¹⁰²). Die Bindetaschen für Adenin und Ribose sowie die Phosphat-Bindestelle stellen eher polare Bereiche, die Spezifitäts-Oberfläche und hydrophobe Tasche eher unpolare Bereiche dar¹⁰¹.

Zusätzlich kann ATP aufgrund seiner reduzierten Affinität von Inhibitor-Molekülen leichter aus der Bindetasche verdrängt werden, was bei den hohen ATP-Konzentrationen von bis zu 10 mM unter physiologischen Bedingungen einer höheren Effektivität gleichkommt¹⁰³. Kombiniert mit der Bedeutung für Tumorerkrankungen ergibt sich damit eine ausgezeichnete Eignung der PIM1-Kinase als Arzneistoff-*target*.

1.3 Die PIM1-Kinase im Fokus der Wirkstoffentwicklung

Seit der Identifikation der PIM1-Kinase als Schlüsselregulator essentieller Zellvorgänge und dem Verständnis ihrer Bedeutung insbesondere für Tumorerkrankungen wurden Versuche unternommen, durch Modulatoren Einfluss auf den Verlauf entsprechender Krankheitsbilder zu nehmen. Erfahrungsgemäß scheitert jedoch ein großer Teil der Substanzen in klinischen Studien, sodass permanent neue, vielversprechende Kandidaten benötigt werden. Im Folgenden werden zunächst die allgemeinen Phasen der Arzneimittelentwicklung beschrieben, um die Aufgabenstellung dieser Arbeit in den Prozess einordnen zu können. Anschließend wird ein Überblick zum aktuellen Stand der Entwicklung von PIM1-Inhibitoren gegeben.

1.3.1 Der Weg zum Wirkstoff

Auf der Suche nach neuen Heilmitteln für unterschiedliche Krankheiten wurde im Laufe der Zeit eine Fülle von Methoden etabliert, um potentiell wirksame Substanzen aufzuspüren. Diese Entwicklung hat sich mit dem Aufkommen von computergestützten Methoden noch erheblich beschleunigt. Das wachsende Wissen um physiologische Zusammenhänge bringt immer neue vielversprechende Zielenzyme ans Licht, zugleich erlaubt die konsequente Weiterentwicklung von bildgebenden Verfahren wie Röntgenkristallographie (*X-ray*) und Kryo-Elektronenmikroskopie (Kryo-EM) das Studium molekularer Wechselwirkungen in immer größerer Detailschärfe¹⁰⁴. Trotzdem ist der Weg zu einem neuen Wirkstoff lang und beschwerlich (**Abb. 1.17**), denn nur ein kleiner Anteil der Kandidaten bringt tatsächlich alle Voraussetzungen mit, um überhaupt in klinischen Studien erprobt zu werden. Besonders zu Beginn entsprechender Bemühungen ist eine große Zahl an Molekülen erforderlich, welche im weiteren Verlauf optimiert werden können.

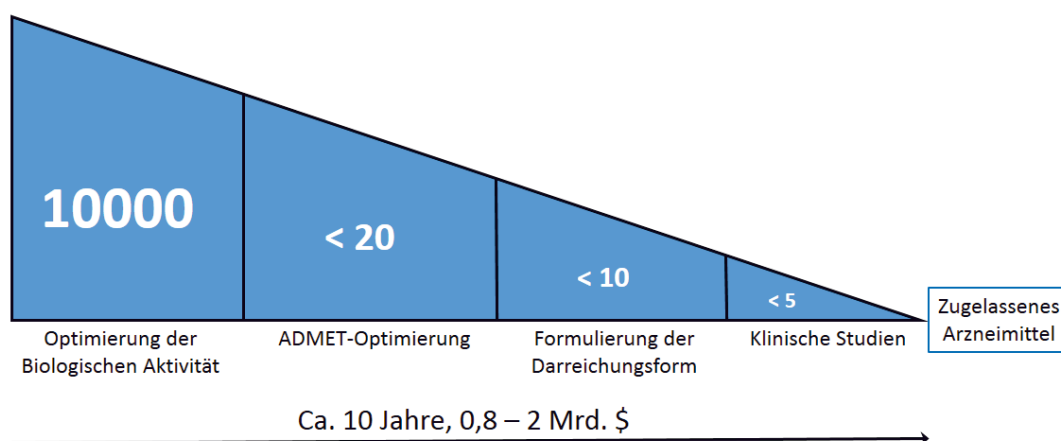


Abb. 1.17: Schematische Darstellung der Entwicklungsphasen eines Arzneimittels. Statistisch gesehen werden anfänglich 10000 Wirkstoff-Kandidaten benötigt, um ein zugelassenes Arzneimittel zu entwickeln¹⁰⁵.

1.3.1.1 Die Suche nach hits

Die Entwicklung von Wirkstoffen beginnt mit der Suche nach geeigneten Startpunkten, sogenannten *hits*. Diese müssen eine Affinität zum Zielenzym aufweisen, gleichzeitig sollte ihre chemische Struktur eine Optimierung der Moleküleigenschaften erlauben. Im Folgenden werden die üblichsten methodischen Ansätze für die Suche nach *hits* kurz dargestellt (Abb. 1.18)¹⁰⁶.

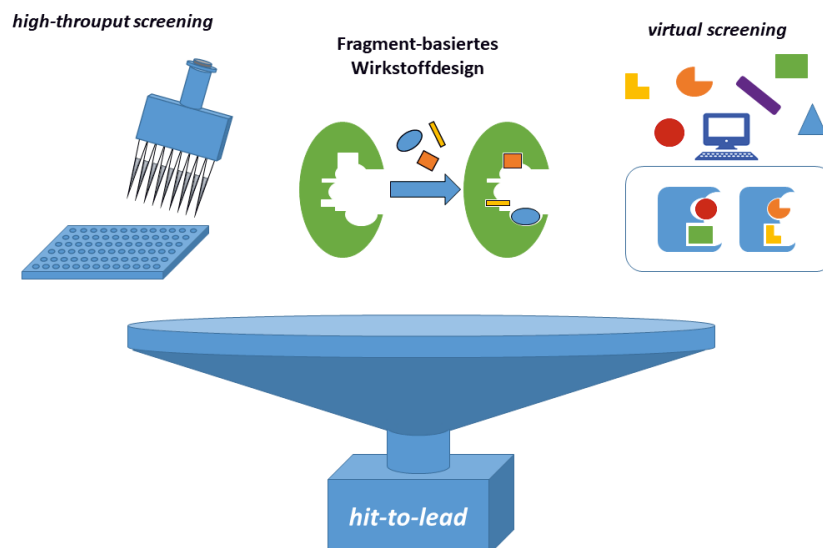


Abb. 1.18: Gängige Verfahren für die Suche nach *hits*.

Eine der Techniken zur Identifikation vielversprechender Verbindungen ist das *high throughput screening* (HTS), bei dem eine große Anzahl verfügbarer Proben in einem geeigneten *assay*-System getestet wird^{107,108}. Die Durchführung im Mikro-Maßstab sowie Fortschritte im Bereich der Robotik erlauben heute die Testung einer sehr großen Anzahl an Verbindungen innerhalb kurzer Zeit ($> 10^4/\text{Tag}$)¹⁰⁹. Zudem können durch die freie Kombination verschiedener Bausteine mit den Methoden der *combinatorial chemistry* sehr große Substanzbibliotheken realisiert werden¹¹⁰. Über DNA-basierte *label*-Techniken bleibt dabei anhand der zugehörigen genetischen Sequenz die Reihenfolge der enthaltenen Bausteine ermittelbar, sodass die Identifizierbarkeit der Struktur von aktiven Molekülen auch bei Gemischen aus tausenden Verbindungen gewährleistet wird¹¹¹. Die personellen und apparativen Anforderungen und der damit verbundene finanzielle Aufwand stellen jedoch eine große Limitation dar, vor allem für die Anwendung im akademischen Bereich.

Alternativ dazu können Struktur-basierte Ansätze genutzt werden, um gezielt Moleküle zu finden, welche eine gute Komplementarität zum potentiellen Arzneistoffziel aufweisen. Beim Fragment-basierten Wirkstoffdesign werden kleine Molekülfragmente (MW < 250 Da) mittels strukturaufklärender Methoden (z. B. *X-ray*, NMR) auf Wechselwirkungen mit dem jeweiligen Protein untersucht¹¹². Falls eine stabile Bindung des Fragments vorliegt, wird dieses in einem iterativen Prozess nach rationalen Gesichtspunkten chemisch modifiziert. Damit kann die gezielte Einführung chemischer Gruppen zur Adressierung weiterer Bestandteile der Bindetasche gemeint sein, aber auch die Kombination von unterschiedlichen Fragmenten durch einen chemischen *linker* ist möglich. Voraussetzung ist in allen Fällen die Möglichkeit der Strukturaufklärung der Protein-Ligand-Komplexe, um die Rationale hinter den chemischen Modifikationen zu überprüfen, da schon kleine

Veränderungen einen großen Einfluss auf die Bindeposition des Moleküls haben können¹¹³. Auch dieses Verfahren ist also mit einem erheblichen Aufwand verbunden, zumal die Erzeugung geeigneter Proteinkristalle nicht für alle Zielproteine möglich ist.

Ferner hat sich seit dem Ende der 1990er Jahre das *virtual screening* als fester Bestandteil vieler *drug development* Kampagnen etabliert¹¹⁴. Bei dieser Technik wird eine Anzahl virtueller Moleküle in die 3-dimensionale (3D) Struktur des Zielproteins eingepasst und anhand von *scoring*-Funktionen bewertet. Moleküle mit gut benotetem Bindungsmodus werden dann gezielt auf tatsächliche biologische Aktivität überprüft. Die Vorteile dieser Methode liegen auf der Hand: Prinzipiell kann eine sehr große Anzahl an Molekülen in relativ kurzer Zeit und mit verhältnismäßig geringem Aufwand gegen ein Enzym von Interesse getestet werden. Dabei ist die Auswahl nicht auf bereits existierende Verbindungen beschränkt, auch virtuell erzeugte Moleküle können auf diese Weise als potentiell vielversprechend identifiziert und dann gezielt synthetisiert werden. Gleichwohl ist der Erfolg der Methode davon abhängig, wie gut die zugrundeliegende Software den physikalischen Bindungsprozess abzubilden vermag. Zudem wird eine hochaufgelöste Proteinstruktur oder ein passendes Analogie-Modell benötigt. Die Auswahl und Vorbereitung der verwendeten Proteinstruktur haben dabei einen erheblichen Einfluss auf das Ergebnis¹¹⁴.

1.3.1.2 *hit-to-lead*

Wenn ein geeigneter *hit* mit ausreichender Affinität gefunden ist, beginnt die Phase der *hit-to-lead*-Optimierung¹¹⁵. Dabei wird der Kandidat hinsichtlich einiger Eigenschaften optimiert, die für einen potentiellen Wirkstoff von Bedeutung sind. Hierzu gehören die Aktivität gegen das biologische Ziel *in vivo* und *in vitro*, eine ausreichende Selektivität gegenüber anderen Enzymen sowie chemische und metabolische Stabilität. Auch Parameter mit Relevanz für die spätere Anwendung im Organismus, z. B. Wasserlöslichkeit, Membranpermeabilität, die Bindung an Blut-Proteine (Serum-Albumin) und die Toxizität der Verbindungen werden bereits in dieser Phase der Entwicklung berücksichtigt. Inzwischen unterstützen Computerprogramme diesen Prozess durch Berechnung und Bewertung kritischer physiko-chemischer Parameter unter Einbeziehung der bisher gewonnenen Erkenntnisse über Arzneistoffe¹¹⁶.

1.3.1.3 *lead*-Optimierung

Nach erfolgreicher Etablierung einer *lead*-Verbindung wird im nächsten Abschnitt des Entwicklungsprozesses das Verhalten in komplexen biologischen Organismen untersucht, die sogenannte ADMET-Optimierung⁸. Das Akronym geht dabei auf die essentiellen Parameter der Pharmakokinetik zurück: **A**bsorption, **D**istribution, **M**etabolisierung, **E**xkretion und **T**oxizität¹¹⁷. Diese lassen sich nicht vollständig mit Computern oder Testsystemen simulieren, daher muss in dieser Phase nach wie vor auch auf Versuchstiere zurückgegriffen werden. Geprüft wird die Verteilung des Arzneistoffkandidaten in den verschiedenen Geweben des Organismus, die Kinetik der zugrundeliegenden Verteilungsprozesse sowie die Verstoffwechselung und Ausscheidung. Von besonderem Interesse ist dabei die Frage, ob am Wirkort eine ausreichende Konzentration erreicht

wird, um tatsächlich eine biologische Wirkung zu erzeugen. Zudem wird die Bildung von potentiell toxischen Abbauprodukten überprüft.

Am Ende des Gesamtprozesses stehen Verbindungen, die alle erforderlichen Eigenschaften mitbringen sollten, um nach Entwicklung einer passenden Darreichungsform im Zuge klinischer Studien erprobt zu werden. Da die klinische Testung den kostenintensivsten Abschnitt des gesamten Verfahrens darstellt, werden bei den vorherigen Zwischenschritten strenge Maßstäbe angelegt, um die Gefahr eines späteren Scheiterns zu minimieren. Dies erklärt die hohe Ausschlussrate während der Optimierung und unterstreicht nochmals die Bedeutung der Entwicklung neuer Startpunkte als wichtigen Schritt auf der Suche nach neuen Wirkstoffen.

1.3.2 Stand der Forschung im Bereich der PIM1-Inhibitoren

Seit Mitte der 2000er Jahre ist aus den bereits erläuterten Gründen die Entwicklung von Inhibitoren für die PIM1-Kinase in den Fokus der medizinischen Forschung gerückt. Einige grundsätzliche Fragen bezüglich der Anwendung sind jedoch nach wie vor nicht abschließend beantwortet. So besteht keine Klarheit darüber, ob eine selektive Hemmung von PIM1, oder eine *pan*-PIM-Inhibition sinnvoller ist, da im zuerst genannten Fall eine Kompensation durch die anderen beiden Mitglieder der Proteinfamilie denkbar wäre. Ferner mehren sich die Hinweise darauf, dass eine Monotherapie mit PIM-Inhibitoren - sowohl *pan*-PIM als auch PIM1-selektiv - nicht den erhofften therapeutischen Nutzen hat¹¹⁸. In Kombination mit anderen Chemotherapeutika und Methoden könnten PIM-Inhibitoren jedoch eine wertvolle Therapieoption darstellen^{119,120}.

Fakt ist, dass in den vergangenen 15 Jahren eine große Anzahl von verschiedenen Molekülen mit unterschiedlichem Grundgerüst als PIM1-Inhibitoren entwickelt wurden. Anhand der Kristallstrukturen publizierter Inhibitoren sollen einige der wichtigsten Interaktionen in der Bindetasche erläutert werden (**Abb. 1.19**)^{121–128}. Dabei muss zuerst Lysin 67 (K67) genannt werden, welches im hinteren Bereich der Bindetasche lokalisiert ist. Nahezu alle bekannten PIM1-Inhibitoren weisen eine Wechselwirkung mit dieser Aminosäure auf, jedoch kann eine solche über unterschiedliche Strukturelemente vermittelt werden. Bei den gezeigten Strukturen ist an der Interaktion wahlweise ein heterozyklisch gebundenes Stickstoff-Atom (LGH447, Verbindung 19), eine Carbonsäure (Verbindung 1) oder die Carbonyl-Funktion eines Lactams (Verbindung 28) beteiligt. Ferner weisen viele Beispiele einen eher unpolaren Molekülteil auf, der im Bereich der *hinge*-Region lokalisiert ist. In einigen Fällen wird auch eine Salzbrücke zwischen basischen Molekülteilen und Aspartat 128 (D128) gebildet. Trotz dieser Gemeinsamkeiten ist insgesamt eine hohe strukturelle Diversität unter den Inhibitoren festzustellen.

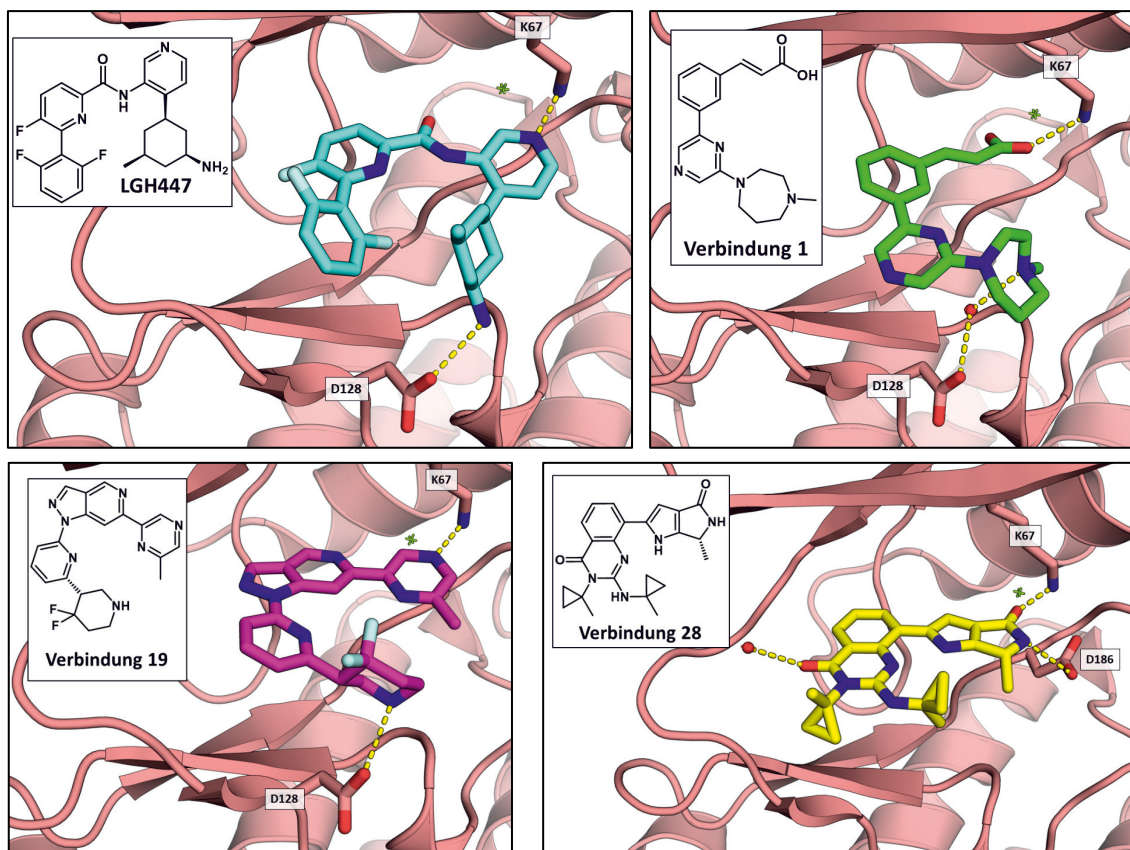


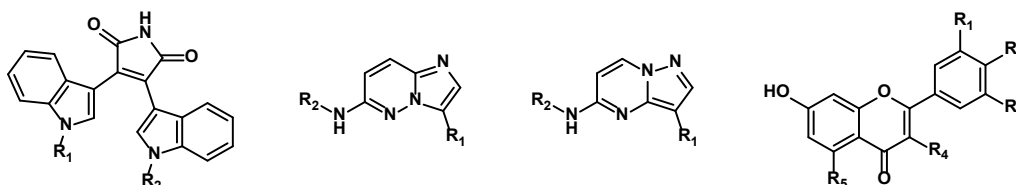
Abb. 1.19: Bekannte PIM-Inhibitoren mit unterschiedlichen chemischen Grundgerüsten im Komplex mit PIM1: **LGH447** (cyan, PDB: 5DWR), **Verbindung 1** (grün, PDB: 3F2A), **Verbindung 19** (magenta, PDB: 5V82) und **Verbindung 28** (gelb, PDB: 6MT0)^{121–128}.

Die unterschiedlichen Strukturmotiven haben zur Folge, dass sich die verschiedenen Verbindungen z. T. erheblich in ihrer Selektivität gegenüber den drei PIM-Kinasen sowie Enzymen außerhalb der Proteinfamilie unterscheiden (**Tab. 1.2**). Die Bedeutung dieser Unterschiede für den klinischen Nutzen und mögliche unerwünschte Wirkungen der einzelnen Substanzen sind jedoch noch nicht vollständig erfasst. Die Entwicklung weiterer Inhibitoren kann dazu beitragen, die entsprechenden Wechselwirkungsmuster besser zu verstehen und gezielt zu optimieren.

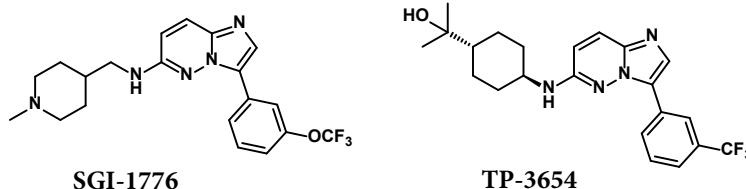
Tab. 1.2: Unterschiedliche Selektivitätsmuster von PIM-Inhibitoren für die Hemmung der verschiedenen Mitglieder der Proteinfamilie.

Verbindung	Aktivität		
	PIM1	PIM2	PIM3
SGI-1776 ³⁶ [IC ₅₀]	7 nM	364 nM	69 nM
TP-3654 ¹¹⁸ [K _i]	5 nM	239 nM	42 nM
CX-6258 ¹²⁴ [IC ₅₀]	5 nM	25 nM	16 nM
Verbindung 1 ¹²¹ [IC ₅₀]	57 nM	40 nM	
INCB053914 ¹²⁰ [IC ₅₀]	0.24 nM	30 nM	0.12 nM
LGH447 ¹²⁹ [K _i]	6 pM	18 pM	9 pM
Verbindung 28 ¹²⁶ [IC ₅₀]	0.05 nM	0.05 nM	
Verbindung 19 ¹²⁵ [K _i]	0.07 nM	0.23 nM	0.02 nM

Die Entwicklung vieler der bekannten Inhibitoren basiert auf präklinischen Optimierungskampagnen zuvor identifizierter *hits*. Es können jedoch Jahre vergehen, bis geeignete Derivate für die klinische Testung zur Verfügung stehen. So berichteten KNAPP *et al.* im Jahr 2005 von der Identifizierung verschiedener Strukturklassen als Grundgerüste für potente PIM1-Inhibitoren¹³⁰. Dazu gehörten die Bisindoylmaleimide, Imidazo[1,2-*b*]pyridazine, Pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine und einige Flavonoide (Abb. 1.20).

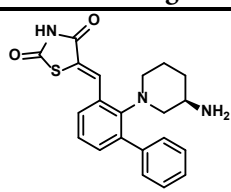
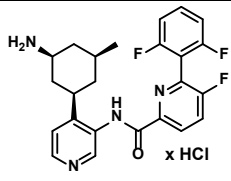
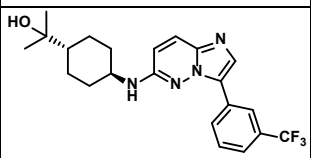
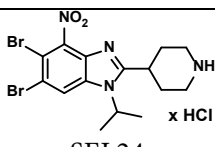
**Abb. 1.20:** Von KNAPP *et al.* identifizierte Struktur motive, die sich für die Entwicklung von PIM-Inhibitoren eignen: Bisindoylmaleimide, Imidazo[1,2-*b*]pyridazine, Pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidine und Flavonoide¹³⁰.

Ausgehend von dem Imidazo[1,2-*b*]pyridazin-Grundgerüst wurde das Molekül SGI-1776 entwickelt, welches in klinischen Studien allerdings starke kardiale Nebenwirkungen aufwies¹³¹. Auf Grundlage der gewonnenen Erkenntnisse wurde die Verbindungsklasse anschließend weiter optimiert, sodass heute mit TP-3654 ein Kandidat ohne diese unerwünschte Wirkung für klinische Studien zur Verfügung steht (Abb. 1.21). Dies illustriert nochmals, wie weit der Weg zwischen einem *hit* und einem Wirkstoffkandidaten tatsächlich sein kann.

**Abb. 1.21:** Die PIM-Inhibitoren SGI-1776 und TP-3654. Die erste Generation dieser Inhibitoren (SGI-1776) zeigte in klinischen Studien eine erhebliche Kardiotoxizität. Die zweite Generation (TP-3654) wurde explizit in dieser Hinsicht optimiert und befindet sich gerade in klinischen Phase-I Studien¹¹⁸.

Insgesamt ist Stand heute noch kein PIM1-Inhibitor durch die zuständigen Behörden für die Behandlung zugelassen, es befinden sich jedoch einige Kandidaten in verschiedenen Stadien der klinischen Erprobung (**Tab. 1.3**)¹¹⁸. Damit besteht weiterhin ein hoher Bedarf an neuen vielversprechenden Kandidaten, die unser Verständnis dieser Enzymklasse erweitern und dabei helfen, PIM-Inhibitoren für die therapeutische Anwendung nutzbar zu machen.

Tab. 1.3: Studien zur Behandlung von Krebserkrankungen mit PIM-Inhibitoren¹¹⁸.

Studie	target	Verbindung	Krankheitsbild	Phase/Status
NCT01588548	pan-PIM	 AZD1208	Fortgeschrittene solide Tumoren/ malignes Lymphom	I / Abgeschlossen
NCT02078609	pan-PIM	 PIM447	Akute myeloische Leukämie / Myelodysplastisches Syndrom	I / Abgeschlossen
NCT03715504	pan-PIM, höhere Aktivität gegen PIM1	 TP-3654	Fortgeschrittene solide Tumoren	I / Rekrutierung
NCT03008187	pan-PIM und FLT3	 SEL24	Akute myeloische Leukämie	I/II / Rekrutierung

1.4 Aufgabenstellung

Ziel dieser Arbeit war die Suche nach neuen *hits* für die Entwicklung potentieller PIM1-Inhibitoren. Dafür standen unterschiedliche Vorarbeiten und damit Strategien zur Verfügung, u. A. *docking*-Ergebnisse und Proteinkristallstrukturen mit Fragment-Molekülen. Durch die Entwicklung und Synthese vielversprechender Moleküle sollten diese für die biologische Testung zugänglich gemacht und geeignete Kandidaten mit den Methoden des rationalen Wirkstoffdesigns weiter optimiert werden.

2 DARSTELLUNG SYNTHETISCH ANSPRUCHSVOLLER *VIRTUAL SCREENING-HITS* FÜR DIE PIM1-KINASE

Parallel zur rasanten Entwicklung der Leistungsfähigkeit von Computern hat auch die Bedeutung von informatischen Methoden in der Wirkstoffentwicklung in den vergangenen Jahren beständig zugenommen. Diese Techniken bieten die Möglichkeit, viele Moleküle innerhalb kurzer Zeit gegen ein Ziel von Interesse zu testen. Im vorangegangenen Kapitel wurde bereits die Notwendigkeit erläutert, am Anfang der Entwicklung von Arzneistoffen eine große Zahl an potentiellen Kandidaten für den anschließenden Optimierungsprozess bereitzustellen. Daher ist es nicht verwunderlich, dass *virtual screenings* inzwischen einen festen Platz in vielen Entwicklungskampagnen haben. In diesem Projekt sollten Verbindungen synthetisiert werden, welche zuvor von DR. FLORENT CHEVILLARD (AG KOLB, Philipps-Universität Marburg) mithilfe eines solchen *virtual screenings* als potentielle PIM1-Inhibitoren identifiziert worden waren (Abb. 2.1)¹³².

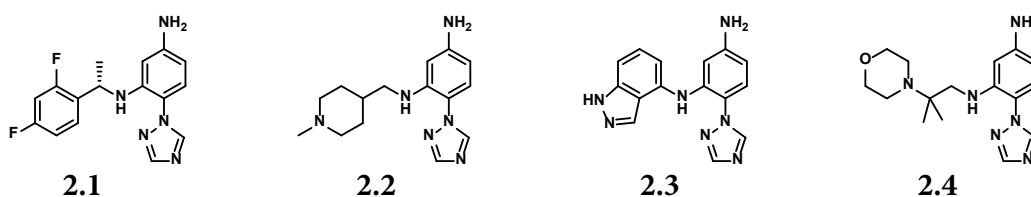


Abb. 2.1: Auswahl an Zielverbindungen, für die eine Synthese etabliert werden sollte¹³².

2.1 Entwicklung der Strukturvorschläge

Die gezeigten Strukturvorschläge gehen auf SCUBIDOO zurück, eine virtuelle Molekülbibliothek mit mehr als 21 Mio. Verbindungen¹³³. Zur Generierung der darin enthaltenen Moleküle wurde eine Auswahl kleinerer Molekülbausteine anhand von 58 robusten chemischen Reaktionen miteinander kombiniert, sodass jedes Molekül auf zwei Ursprungs-Bausteine zurückgeführt werden kann (Abb. 2.2)¹³⁴.

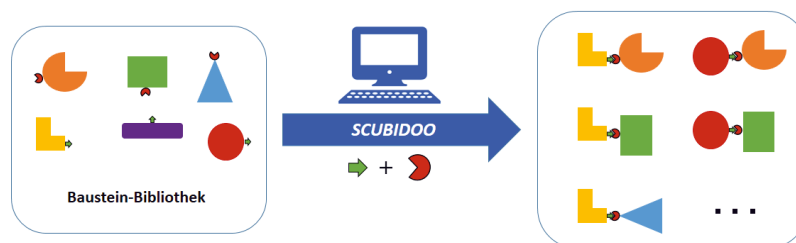


Abb. 2.2: Alle Moleküle der SCUBIDOO-Datenbank sind auf zwei Ursprungs-Bausteine zurückzuführen, welche *in silico* durch die Anwendung von 58 robusten Reaktionen in allen möglichen Kombinationen miteinander verknüpft wurden¹³³.

Durch *docking* repräsentativer Sets der Datenbank kann nicht nur nach Verbindungen mit insgesamt vielversprechendem Bindungsmodus gesucht werden, sondern auch nach solchen, bei denen nur einer der Bausteine vorteilhafte Interaktionen zum Protein zeigt (Abb. 2.3). Anschließend wird dieser Baustein als Filter verwendet, um alle Moleküle zu finden, in denen er als Bestandteil vorhanden ist.

Aus diesen wird ein neues Set erstellt und mittels *docking* diejenigen Derivate identifiziert, bei denen auch der zweite Molekülteil durch Interaktionen mit dem Protein den Bindungsmodus unterstützt.

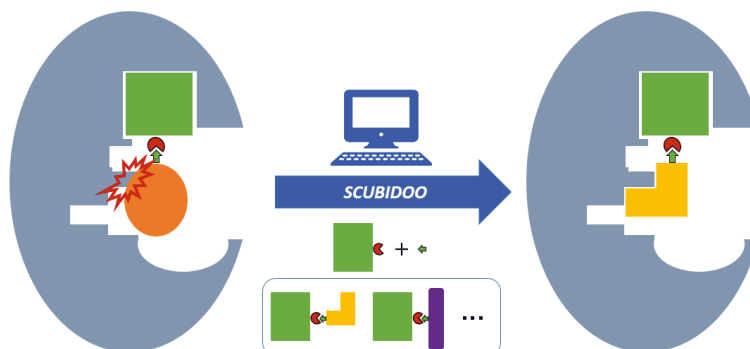


Abb. 2.3: Moleküle, bei denen nur einer der Ursprungs-Bausteine eine Interaktion zum Protein zeigt, werden in ihre beiden Bestandteile zerlegt. Der vorteilhafte Baustein dient als Filter, um Derivate zu finden, bei denen möglichst beide Molekülteile zum Bindungsmodus beitragen.

In den Vorarbeiten zu diesem Projekt wurde zunächst 3-Chlor-4-triazol-1-yl-anilin (**2.5**) als Baustein mit vielversprechendem Wechselwirkungsmuster identifiziert. Dabei sollte das Anilin eine H-Brücke zum Hauptketten-Carbonyl von D121 ausbilden und das Triazol eine Interaktion mit K67 eingehen (**Abb. 2.4**).

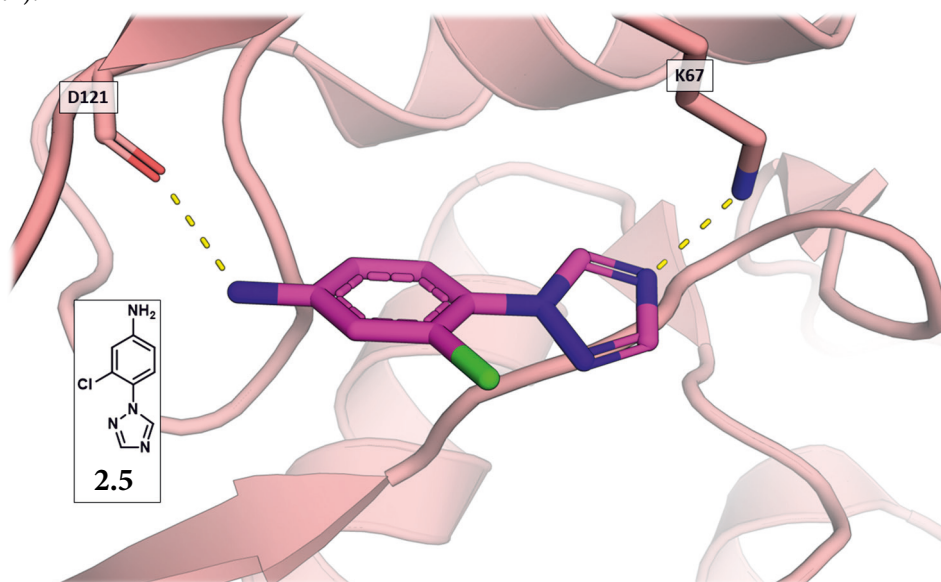
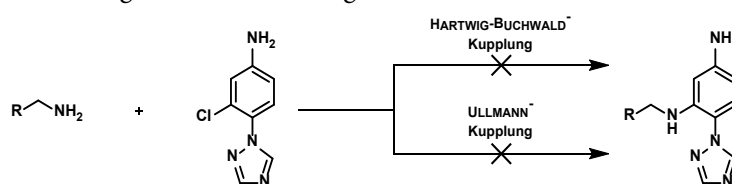


Abb. 2.4: Docking-Lösung des Bindungsmodus von Baustein **2.5**.

Basierend auf dem postulierten Bindungsmodus wurden im nächsten Schritt Derivate dieses Bausteins untersucht, welche von SCUBIDOO auf Grundlage einer HARTWIG-BUCHWALD-Kupplung über das Chlor in 3-Position mit Amino-Bausteinen verknüpft worden waren. Damit sollten die Bereiche der Spezifitäts-Oberfläche und der Ribose-Tasche für zusätzliche Wechselwirkungen adressiert werden (s. Kapitel 1.2.3). Die Auswertung der entsprechenden *docking*-Lösungen ergab unter anderem für die in **Abb. 2.1** gezeigten Verbindungen vielversprechende Bindungsmodi, sodass diese für eine anschließende Synthese ausgewählt wurden. Da die Verbindungen auf die *in silico*-Anwendung einer Kupplungsreaktion zurückzuführen waren, lag es nahe, diese Reaktion auch für die tatsächliche Synthese zu nutzen. Ein solches Vorgehen stellte sich jedoch bei vorangegangenen Arbeiten in

unserem Arbeitskreis als nicht durchführbar heraus, obwohl die in SCUBIDOO angewendeten Reaktionen nach dem Kriterium der Robustheit ausgewählt wurden¹³⁵. So konnte trotz intensiver Studien und zahlreicher Versuche keine Vorschrift für die erfolgreiche HARTWIG-BUCHWALD-Kupplung der Verbindung **2.5** mit Aminen erarbeitet werden (**Schema 2.1**). Auch die Darstellung mittels ULLMANN-Kupplung blieb in den Vorarbeiten erfolglos.

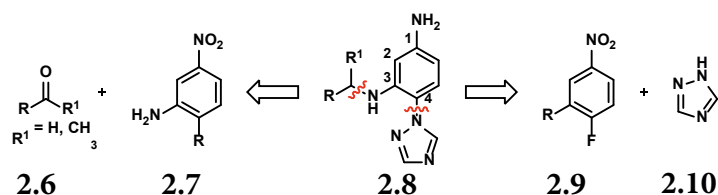
Über die Gründe dieser Fehlschläge konnten bisher nur Mutmaßungen angestellt werden. So wäre eine ungünstige Elektronenkonfiguration der zu kuppelnden Vorläufer denkbar, welche die Addition des entsprechenden Substrates an den Katalysator behindert. Auch durch eine ausgeprägte sterische Hinderung wäre ein solcher Effekt denkbar. Es bleibt festzuhalten, dass Kreuzkupplungen für die zentrale Bindungsknüpfung aufgrund der Vorarbeiten als ungeeignet bewertet werden mussten. Daher sollte durch eine erneute retrosynthetische Analyse im Rahmen dieser Arbeit ein neuer Syntheseweg zur Darstellung der Zielverbindungen erarbeitet werden.



Schema 2.1: Die Synthese der Zielverbindungen anhand der in SCUBIDOO zugrundeliegenden Kupplungs-Reaktion war in Vorarbeiten nicht erfolgreich¹³⁵.

2.2 Retrosynthetische Betrachtung

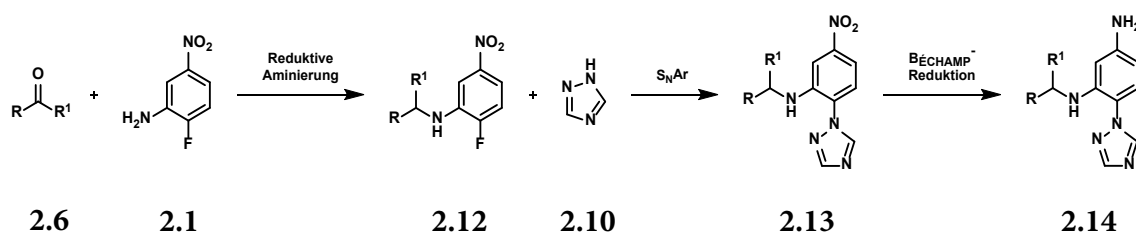
Da die Synthese in den vorangegangenen Arbeiten an der Knüpfung einer neuen C-N-Bindung in 3-Position des Ringes gescheitert war, sollte diese Bindung bereits im Rahmen der verwendeten Ausgangssubstanzen mitgebracht werden. Aus der Grundstruktur **2.8** ergaben sich damit die Installation entsprechender Reste am Anilin sowie die Einführung des Triazols in 4-Position als retrosynthetische Schnitte (**Schema 2.2**). Die Modifizierung der Aminogruppe sollte dabei durch reduktive Aminierung mit geeigneten Carbonyl-Verbindungen (**2.6**) realisiert werden. An dieser Stelle mussten zur Synthese der Zielverbindungen Ketone und sterisch anspruchsvolle Aldehyde umgesetzt werden, das die Durchführung der Reaktion zusätzlich erschwerte. Für die Bindungsknüpfung zum Triazol (**2.10**) wurde bereits im Rahmen der Vorarbeiten die S_NAr -Reaktion mit einem entsprechenden Arylfluorid (**2.9**) als Syntheseweg etabliert¹³⁵.



Schema 2.2: Retrosynthetische Zerlegung der Grundstruktur **2.8**.

Für diese beiden Syntheseschritte war zudem eine Nitro-Gruppe in 1-Position notwendig. Bei der reduktiven Aminierung sollte damit die Regioselektivität gewahrt werden, im Falle der Triazol-Substitution wurde der aktivierende –M-Effekt für den Ablauf der Reaktion benötigt. Daher musste zusätzlich eine entsprechende Reduktion zum Anilin als letzter Syntheseschritt eingeplant werden. Für diese Umsetzung war bereits im Rahmen der Vorarbeiten eine Vorschrift zur Durchführung einer BÉCHAMP-Reduktion entwickelt worden und konnte somit übernommen werden¹³⁵.

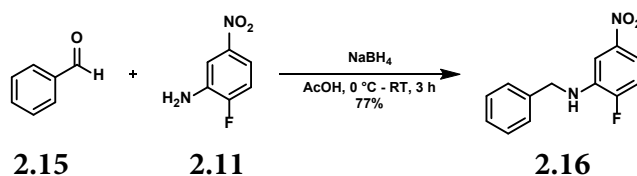
Die Reihenfolge der anderen beiden Einzelschritte wurde anhand ihrer Bedeutung für die Gesamtsynthese bestimmt. Die Verknüpfung der beiden Bausteine anhand der reduktiven Aminierung war als Schlüsselschritt der Synthese anzusehen, dementsprechend sollte diese im ersten Reaktionsschritt erfolgen. Damit ergab sich die in **Schema 2.3** gezeigte Reaktionssequenz für die Synthese der Zielverbindungen.



Schema 2.3: Anhand der Retrosynthese postulierte Synthesesequenz zur Darstellung der Zielverbindungen.

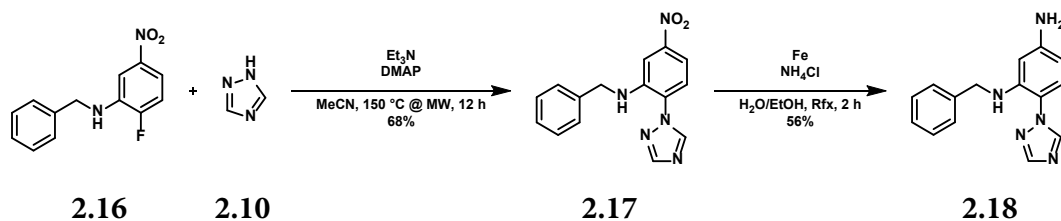
2.3 Synthese der 1. Serie

Um die Eignung der vorgeschlagenen Schlüsselreaktion zu überprüfen, wurde diese exemplarisch mit Benzaldehyd (**2.15**) als Carbonyl-Komponente durchgeführt. Der Aldehyd wurde dafür zunächst mit 2-Fluor-5-nitroanilin (**2.11**) in AcOH vorgerührt, um das entsprechende Imin zu bilden. Dieses wurde anschließend mit NaBH_4 zum sekundären Anilin **2.16** reduziert (**Schema 2.4**).



Schema 2.4: Zentrale Verknüpfung der zwei Bausteine **2.15** und **2.11** durch reduktive Aminierung.

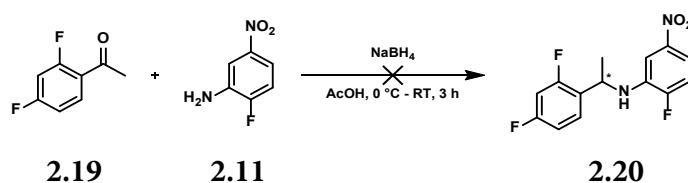
Das Produkt **2.16** wurde anschließend in der Mikrowelle mit Triazol umgesetzt, wobei trotz einer hohen Temperatur (150 °C) zunächst nur ein sehr niedriger Umsatz zu beobachten war. Dieser wurde auf die deaktivierende Wirkung der Aminogruppe in o-Position zurückgeführt und konnte schließlich durch Verlängerung der Reaktionszeit auf 12 h und den Einsatz von DMAP als Katalysator erheblich verbessert werden (**Schema 2.5**). Die nachfolgende Reduktion der Nitro-Verbindung **2.17** ergab Anilin **2.18**, welches als Analogon von Verbindung **2.1** aufgefasst werden kann. Somit wurde die grundsätzliche Eignung dieser Syntheseroute zur Darstellung der Zielverbindungen belegt.



Schema 2.5: Darstellung der Test-Zielverbindung **2.18** durch Installation des Triazol-Restes in einer Mikrowellen-unterstützten S_NAr -Reaktion und anschließende Reduktion der Nitrogruppe von **2.17**.

2.3.1 Verbindung 2.1 – Demethyliertes Derivat und Racemat

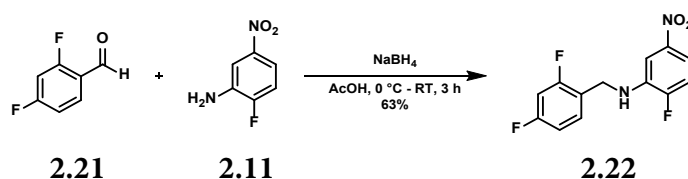
Als nächstes sollte die nun etablierte Synthesesequenz für die Synthese der Zielverbindung **2.1** genutzt werden. Da dieser Route folgend die enantiomerenreine Darstellung der Verbindung nicht möglich war, sollte zunächst das Racemat synthetisiert werden. Bei der Reaktion von 2,4-Difluoracetophenon (**2.19**) mit Anilin **2.11** unter den erprobten Reaktionsbedingungen war jedoch wider Erwarten keine Imin-Bildung feststellbar, sodass der Reaktionsschritt unter diesen Bedingungen nicht durchgeführt werden konnte (**Schema 2.6**).



Schema 2.6: Die reduktive Aminierung zwischen dem Acetophenonderivat **2.19** und Anilin **2.11** konnte mit den vorher etablierten Reaktionsbedingungen nicht erfolgreich durchgeführt werden.

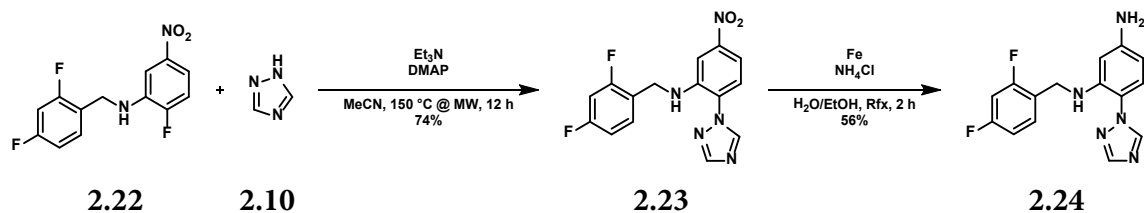
Aus diesem Grund wurde die Synthese zunächst mit dem entsprechenden Fluorbenzaldehyd durchgeführt, um zumindest eine möglichst hohe Analogie zum ursprünglichen Strukturvorschlag zu erreichen. Gleichzeitig wurde weiter nach geeigneten Vorschriften für die reduktive Aminierung von Anilinen und Ketonen gesucht, um die eigentliche Zielverbindung darstellen zu können.

Die Synthese mit 2,4-Difluorbenzaldehyd (**2.21**) verlief analog zur Syntheseroute der Testverbindung. Im ersten Schritt wurde der Aldehyd mit **2.11** zum sekundären Anilin **2.22** umgesetzt (**Schema 2.7**).



Schema 2.7: Reduktive Aminierung von 2,4-Difluorbenzaldehyd (**2.21**) und 2-Fluor-5-nitroanilin (**2.11**) zu Verbindung **2.22**.

Im Anschluss wurde zunächst das Triazol eingeführt und die Nitrogruppe zum Anilin **2.24** reduziert (Schema 2.8).



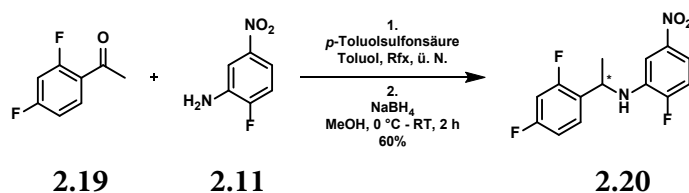
Schema 2.8: Einführung des Triazol-Restes und anschließende Reduktion der Nitrogruppe von **2.23** zur Zielverbindung **2.24**.

Im weiteren Verlauf der Arbeit konnte schließlich auch eine geeignete Vorschrift für die reduktive Aminierung mit Acetophenon **2.19** erarbeitet werden (Tab. 2.1).

Tab. 2.1: Getestete Reaktionsbedingungen zur Durchführung der reduktiven Aminierung von **2.19** und **2.11**.

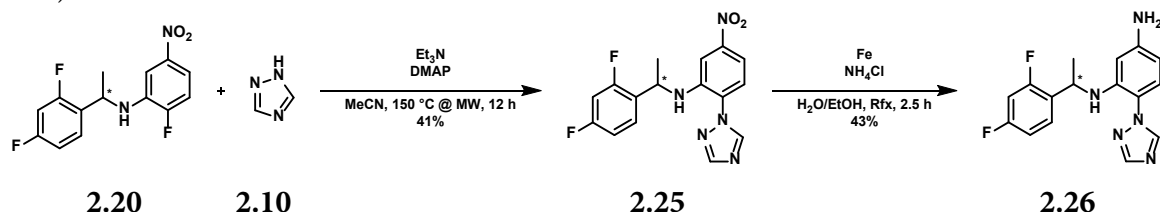
Reaktionsbedingungen	Ausbeute
NaBH ₄ 0 °C - RT, 3 h	-
Ti(OiPr) ₄ , NaBH ₃ CN EtOH, RT, 1,5 h	-
NaBH(OAc) ₃ AcOH, RT, 3 h	-
NaBH(OAc) ₃ DCE, RT, 3 d	-
1.) <i>p</i> -TsOH, Toluol, Rfx, Wasserabscheider 2.) NaBH ₄ , MeOH, 0 °C - RT	60%

Durch Vorrühren in siedendem Toluol unter Verwendung eines Wasserabscheiders und *p*-TsOH konnte zunächst das entsprechende Imin gebildet werden, was sich durch Ausbildung einer tiefroten Färbung anzeigte. Anschließend wurde dieses nach Zugabe von MeOH mit NaBH₄ zum sekundären Anilin **2.20** reduziert (Schema 2.9).



Schema 2.9: Reduktive Aminierung mit 2,4-Difluoracetophenon (**2.19**) in einem zweistufigen Prozess. Zunächst wird unter Verwendung eines Wasserabscheiders das Imin gebildet, anschließend wird dieses mit NaBH₄ zu **2.20** reduziert.

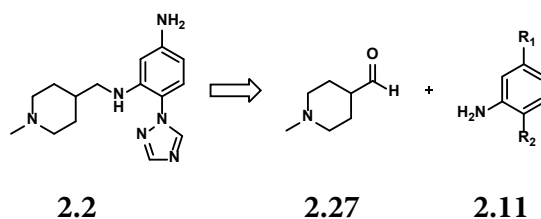
Die nachfolgenden Syntheseschritte konnte wieder analog zur etablierten Syntheseroute durchgeführt werden, sodass schließlich die Zielverbindung als racemisches Gemisch **2.26** erhalten wurde (**Schema 2.10**).



Schema 2.10: Die Einführung des Triazol-Restes und anschließende Reduktion der Nitrogruppe von **2.25** zur Zielverbindung **2.26** erfolgte gemäß der etablierten Syntheseroute.

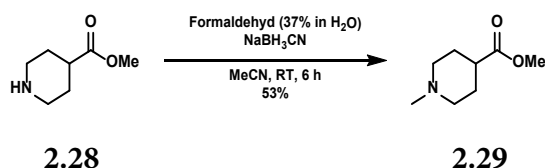
2.3.2 Verbindung 2.2

Für die Darstellung der Verbindung **2.2** musste zunächst der entsprechende Aldehyd **2.27** synthetisiert werden (**Schema 2.11**).



Schema 2.11: Retrosynthese von Verbindung **2.2**.

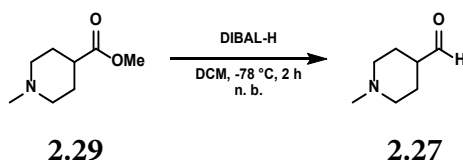
Zu diesem Zweck wurde zunächst Methylisonipeccotat (**2.28**) in einer reduktiven Aminierung mit Formaldehyd am Stickstoff methyliert (**Schema 2.12**). Das erhaltene Produkt **2.29** war so flüchtig, sodass es nicht im Hochvakuum getrocknet werden konnte. Daher wurde eine Reinigung mittels Kugelrohrdestillation etabliert, um Ausbeuteverluste im Zuge einer Säulenchromatographie zu vermeiden.



Schema 2.12: Methylierung von Methylisonipeccotat (**2.28**) durch reduktive Aminierung mit Formaldehyd.

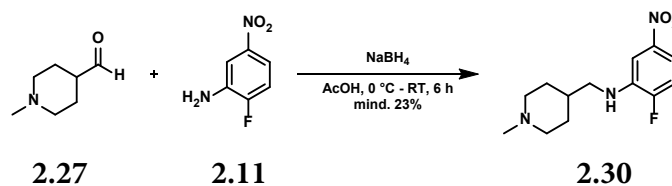
Alternativ hätte die Methylgruppe auch durch Substitution eines Methylhalogenides eingeführt werden können. Dabei war jedoch eine Zweifachreaktion zur quartären Ammoniumverbindung zu befürchten, sodass die reduktive Aminierung die sinnvollere Alternative darstellte.

Anschließend wurde der Methylester **2.29** mit DIBAL-H selektiv zum Aldehyd **2.27** reduziert (**Schema 2.13**). Diese Verbindung stellte sich allerdings als instabil heraus, sodass eine vollständige Reinigung nicht durchgeführt und die Ausbeute daher nicht bestimmt werden konnte.



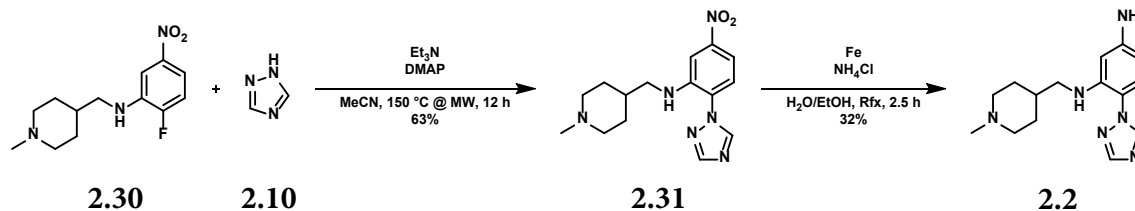
Schema 2.13: Selektive Reduktion des Carbonsäureesters von **2.29** zum Aldehyd **2.27**.

Nachdem auf diese Weise der benötigte Aldehyd dargestellt werden konnte, wurde er im nächsten Schritt mit Anilin **2.11** umgesetzt (**Schema 2.14**). Dabei konnten trotz der Verwendung von 4 Å Molsieb zur Unterstützung der Imin-Bildung nur niedrige Ausbeuten erzielt werden.



Schema 2.14: Reduktive Aminierung zu Verbindung **2.30**. Für die Berechnung der Ausbeute wurde das Vorliegen von reinem **2.27** angenommen, sodass die tatsächliche Ausbeute vermutlich höher liegt.

Darauf folgten die Einführung des Triazol-Restes und die Reduktion der Nitrogruppe, sodass schließlich die Zielverbindung **2.2** erhalten wurde (**Schema 2.15**).



Schema 2.15: Einführung des Triazol-Restes und anschließende Reduktion der Nitrogruppe von **2.31** zur Zielverbindung **2.2**.

Nachdem auf diese Weise die Synthese von 2 Strukturvorschlägen erfolgreich durchgeführt werden konnte, wurde zunächst die biologische Aktivität der dargestellten Verbindungen bestimmt. Sollte sich eines der synthetisierten Derivate als vielversprechender Ansatzpunkt für die Weiterentwicklung herausstellen, könnten Strategien zur strukturbasierten Optimierung verfolgt werden.

2.4 Testung der biologischen Aktivität

Die Testung der synthetisierten Verbindung wurde von Eurofins® durchgeführt. Es wurde die verbleibende Kinase-Aktivität bei 100 μM bestimmt (Abb. 2.5).

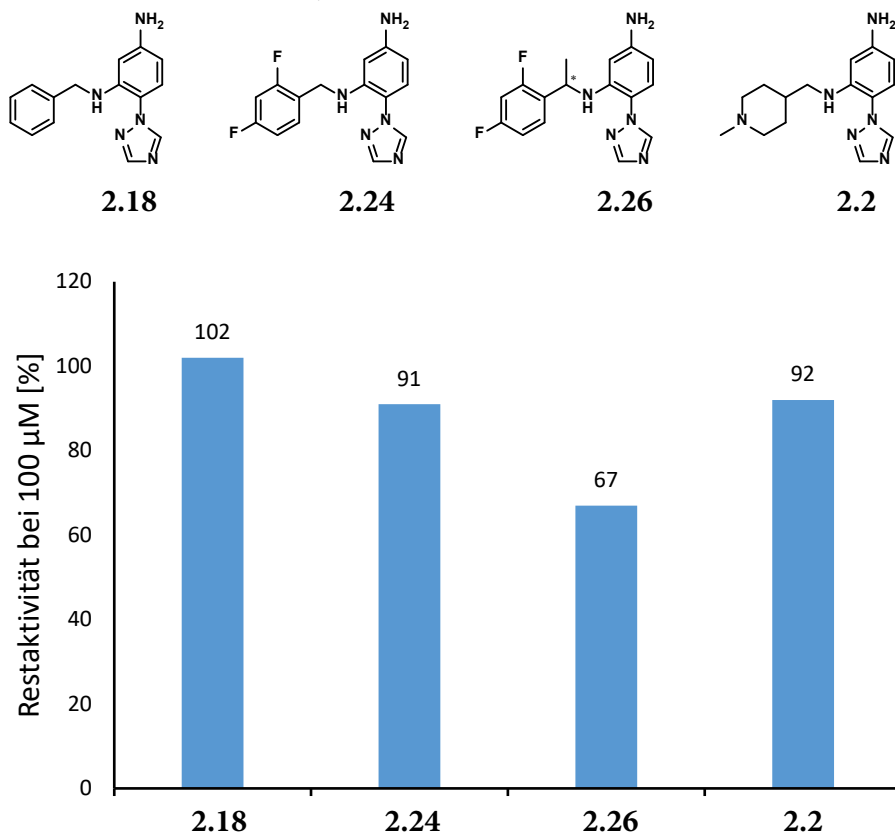


Abb. 2.5: Messung der Aktivität gegen die PIM1-Kinase. Aufgetragen ist die Restaktivität der Kinase bei einer Inhibitor-Konzentration von 100 μM .

Die Messungen zeigten, dass Verbindung **2.18**, anhand derer die Syntheseroute etabliert worden war, keine signifikante Aktivität gegen die PIM1-Kinase aufwies. Dies wurde als Hinweis gedeutet, dass die 4-Triazol-1-yl-anilin-Teilstruktur als zentraler Molekülteil nicht genug Affinität zum Enzym aufweist, um bei einer ungünstigen Substitution in 3-Position noch eine signifikante Bindung zu bewirken. Verbindung **2.24** mit fluoriertem aromatischem Rest zeigte im Vergleich zu **2.18** eine leicht gesteigerte Aktivität, jedoch nicht in einem Maße, dass den Fluor-Substituenten eine besondere Bedeutung unterstellt werden kann. Das Racemat des ursprünglichen Strukturvorschlags (**2.26**) zeigte hingegen mit 67% Restaktivität eine leichte Hemmung der Kinase-Aktivität, daher wurde für dieses bei Eurofins® ein IC_{50} -Wert von 228 μM bestimmt. Diesen Ergebnissen zufolge ist der zusätzlichen Methylgruppe am Substituenten ein gewisser Einfluss auf die Aktivität zuzusprechen. Verbindung **2.2** zeigte wiederum mit 92% Restaktivität kaum eine Hemmung der PIM1-Kinase.

2.5 Proteinkristallstruktur mit 2.26

Alle in diesem Kapitel diskutierten Proteinkristallstrukturen gehen auf PHIL HOCHBAN (AG DIEDERICH, Philipps-Universität Marburg) zurück. Die Diskussion der jeweiligen Bindungsmodi erfolgte in dieser Arbeit nur in einem Maße, wie es für die Nachvollziehbarkeit der weiteren Synthesen erforderlich ist. Für genauere Informationen zur Expression, Kristallisation und Röntgenstrukturanalyse sowie einer ausführlichen Diskussion der Bindungsmodi sei auf seine Dissertationsschrift verwiesen.

Um die im *docking* postulierte Bindeposition dieser Strukturklasse zu bestätigen, wurden Versuche unternommen, Proteinkristallstrukturen der Liganden im Komplex mit der PIM1-Kinase zu gewinnen. Dies gelang für Verbindung **2.26**, sodass mithilfe der Kristallstruktur eine rationale Weiterentwicklung des Liganden auf Grundlage des Bindungsmodus möglich wurde (**Abb. 2.6**).

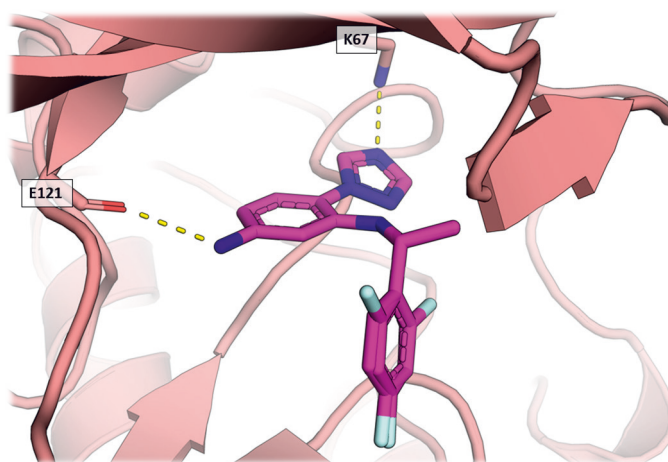


Abb. 2.6: Kristallstruktur von Verbindung **2.26** (magenta) im Komplex mit der PIM1-Kinase.

Bei Überlagerung der Kristallstruktur mit der *docking*-Lösung des postulierten Bindungsmodus von Verbindung **2.26** war zu erkennen, dass der auf das Ursprungsfragment zurückgehende Molekülteil weitestgehend die vorhergesagte Orientierung in der Bindetasche einnahm (**Abb. 2.7**). Das Anilin zeigte eine Wechselwirkung mit D121, während das Triazol eine Interaktion mit K67 ausbildete.

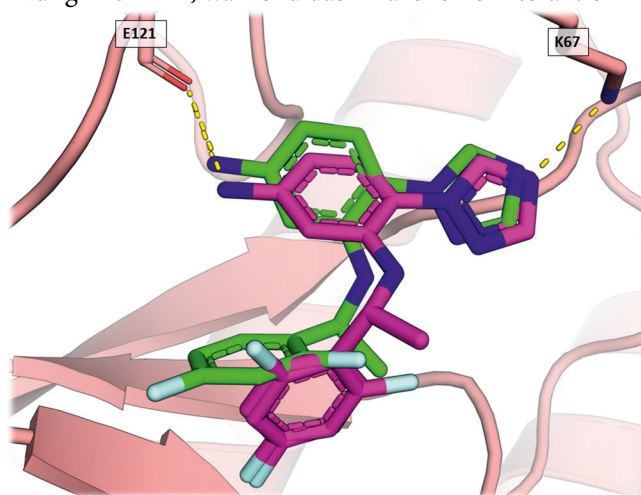


Abb. 2.7: Überlagerung der Kristallstruktur von **2.26** (magenta) und der *docking*-Lösung (grün) von Verbindung **2.1**. Der Molekülteil aus Triazol und Anilin nimmt die vorhergesagte Bindeposition ein.

Der fluorhaltige Aromat war hingegen anders orientiert, als durch das *docking* vorhergesagt. Dies wurde darauf zurückgeführt, dass die in der Kristallstruktur beobachtete Stereokonfiguration des Liganden nicht der des gedockten Moleküls entsprach (**Abb. 2.8**). Zudem wurde der zentrale Aromat in seiner Orientierung zum Triazol leicht verdreht, sodass diese beiden Molekülteile nicht mehr als vollständig planares System vorlagen.

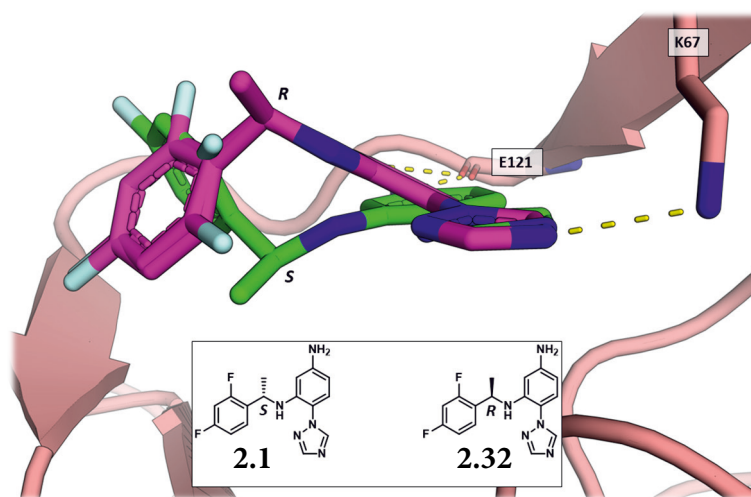


Abb. 2.8: In der Kristallstruktur war das *R*-Enantiomer **2.32** (magenta) als Ligand gebunden, nicht das im *docking* vorhergesagte *S*-Enantiomer **2.1** (grün).

Diese Beobachtungen warfen die Frage auf, ob das *R*-Isomer aus der Kristallstruktur lediglich eine größere Affinität als das *S*-Isomer aufwies und letzteres demnach im racemischen Gemisch aus der Bindung verdrängte, oder ob diese Stereokonfiguration eine Grundvoraussetzung für die biologische Aktivität darstellte. Eine Trennung der Isomere wäre daher geeignet, um im direkten Vergleich der beiden Enantiomere die Bedeutung der Konfiguration zu beleuchten. Dafür war jedoch eine Reinigung an chiralem Säulenmaterial notwendig. Vor dem Hintergrund der moderaten Hemmwirkung ($IC_{50} = 228 \mu M$) erschien dieser Aufwand nicht gerechtfertigt, sodass auf die Trennung der Enantiomere an dieser Stelle verzichtet wurde.

Zudem wurde nach Erklärungsansätzen gesucht, warum mit Verbindung **2.26** trotz einer mäßigen biologischen Aktivität eine hochaufgelöste Proteinkristallstruktur generiert werden konnte. Selbst bei Berücksichtigung der Tatsache, dass möglicherweise nur eines der beiden Stereoisomere tatsächlich biologisch aktiv war, musste für dieses ein IC_{50} -Wert von $> 100 \mu M$ erwartet werden. Entsprechend war insbesondere hinsichtlich des fluorierten Aromaten verwunderlich, dass dieser so stabil in der Röntgenkristallstruktur aufgelöst wurde, obwohl über ihn keine direkten Wechselwirkungen zum Protein vermittelt wurden.

Eine mögliche Ursache könnte in der Rigidisierung der Proteinstruktur im Zuge der Kristallisation liegen. Dies betrifft vor allem die Glycin-reiche Schleife (*G-loop*) oberhalb der Bindetasche, welche mit vornehmlich hydrophoben Aminosäuren in Richtung des Liganden orientiert ist (**Abb. 2.9**).

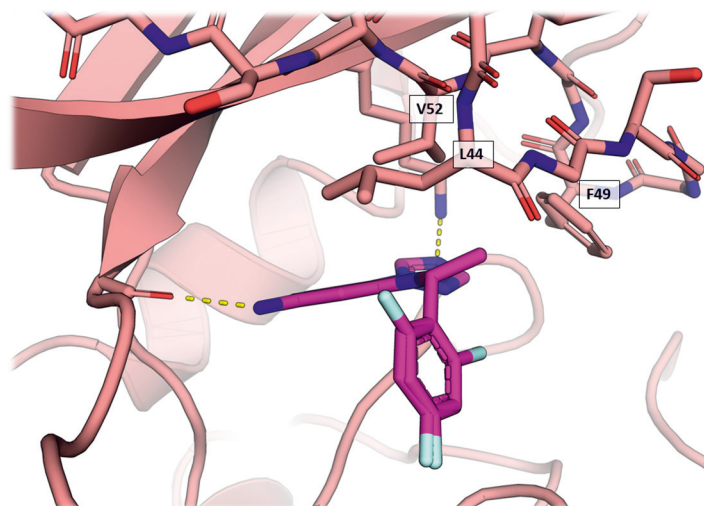


Abb. 2.9: Die hydrophoben Reste der Aminosäuren L44, F49 und V52 aus dem flexiblen *G-loop* sind in Richtung der Bindetasche orientiert. Dort bilden sie ein unpolares *Interface*, welches möglicherweise die Bindung des Liganden in Abhängigkeit von der Flexibilität der Proteinstruktur unterstützt.

Diese Schleife ist relativ beweglich und kann unterschiedliche Positionen einnehmen. Mit der Einbindung in ein Kristallgitter wird die Beweglichkeit vermutlich eingeschränkt, sodass durch die Fixierung dieses Proteinteils eine unpolare Kontaktfläche (*Interface*) zur Verfügung steht, welche die Bindung des Liganden in der Kristallstruktur mit unpolaren Wechselwirkungen unterstützt. In Lösung ist dieser Effekt möglicherweise aufgrund der höheren Flexibilität der Schleife reduziert und leistet nur einen kleineren Beitrag zur Affinität des Liganden. Anhand dieser Theorie lässt sich zudem erklären, warum die zusätzliche Methylgruppe von Verbindung **2.26** im Vergleich zu **2.24** eine Verbesserung der Aktivität bewirkt (**Abb. 2.10**). Der Methyl-Substituent ist genau in Richtung des unpolaren *Interface* orientiert und trägt daher vermutlich mit hydrophoben Interaktionen zur erhöhten Affinität bei.

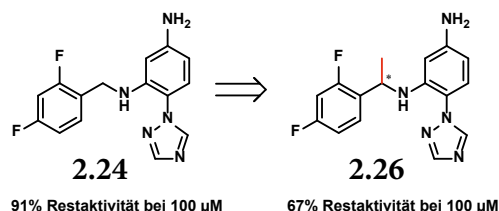


Abb. 2.10: Die Einführung einer Methylgruppe von **2.24** zu **2.26** bewirkt eine Steigerung der Affinität, was vermutlich auf hydrophobe Interaktionen des Methylrestes mit dem *G-loop* zurückzuführen ist.

2.6 Fazit der 1. Serie

Ausgehend von synthetischen Vorarbeiten konnte durch eine erneute retrosynthetische Analyse eine neue Syntheseroute für die Darstellung der Zielverbindungen entwickelt werden. Anhand dieser Route wurden zwei der Strukturvorschläge sowie zwei Analoga synthetisiert und diese auf ihre biologische Aktivität getestet. Leider konnte keine signifikante Hemmung der Kinase-Aktivität beobachtet werden, Verbindung **2.26** wies mit einer Restaktivität von 67% bei 100 μM und einem IC_{50} -Wert von 228 μM noch den stärksten Effekt auf.

Trotz der niedrigen Affinität gelang es einem Mitglied unserer Arbeitsgruppe, den Bindungsmodus von **2.26** anhand einer Proteinkristallstruktur aufzuklären. Es zeigte sich, dass die ursprüngliche *docking*-Hypothese bezüglich des Triazol-1-yl-anilin-Teils mit dem beobachteten Bindungsmodus übereinstimmte, die Seitenkette hingegen anders orientiert war als im *docking* vorhergesagt. Dies wurde unter anderem auf die Stereokonfiguration des Liganden zurückgeführt, da in der Kristallstruktur das entgegengesetzt konfigurierte Enantiomer gebunden war. Zudem konnte die Glycin-reiche Schleife als möglicher Grund für die Diskrepanz zwischen beobachteter Affinität und Auflösung der Kristallstruktur identifiziert werden. Diese wird im Proteinkristall vermutlich fixiert und bildet dabei eine hydrophobe Kontaktfläche, welche die Bindung des Liganden im Kristall maßgeblich unterstützt. Ein solcher Effekt kommt in Lösung durch die erhöhte Flexibilität der Proteinstruktur möglicherweise nicht im gleichen Maße zustande, was sich unter diesen Bedingungen in der reduzierten Affinität widerspiegelt. Der Umstand, dass die zusätzliche Methylgruppe in Verbindung **2.26** genau in Richtung der Kontaktfläche orientiert war und gleichzeitig eine Verbesserung der Aktivität im Vergleich zu **2.24** bewirkte, bestärkte diesen Erklärungsansatz.

Ausgehend von der Kristallstruktur wurde es als vielversprechender bewertet, eine Optimierung der Struktur von Verbindung **2.26** anzustreben, als die Synthese der beiden verbleibenden ursprünglichen Strukturvorschläge zu verfolgen. Der Fokus sollte dabei auf der Erprobung neuer Substituenten am C3-Amin liegen, welche durch Vermittlung polarer Interaktionen einen substantiellen Beitrag zur Steigerung der Affinität leisten sollten (**Abb. 2.11**).

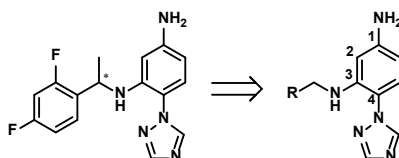


Abb. 2.11: Durch Variation des Substituenten an der C3-Aminogruppe sollten im nächsten Entwicklungszyklus Derivate entwickelt werden, die auch mit diesem Molekülteil polare Interaktionen eingehen.

2.7 Synthese der 2. Serie

Auf Grundlage der Proteinkristallstruktur wurde im weiteren Verlauf des Projektes die Struktur von Verbindung **2.26** zur Verbesserung der Affinität modifiziert. Dafür wurde sich zwei verschiedener Vorgehensweisen bedient.

2.7.1 Rationale Modifizierung

Im ersten Ansatz sollte versucht werden, gezielt eine Interaktion mit D128 und D131 zu vermitteln. Dafür sollte in 4'-Position eine Erweiterung zum Benzylamin erfolgen, um eine Salzbrücke zu den beiden sauren Seitenketten auszubilden. Zur Vereinfachung der Synthese wurde jedoch auf die Fluor-Substituenten und die zusätzliche Methylgruppe in α -Position zum Amin verzichtet (**Abb. 2.12**).

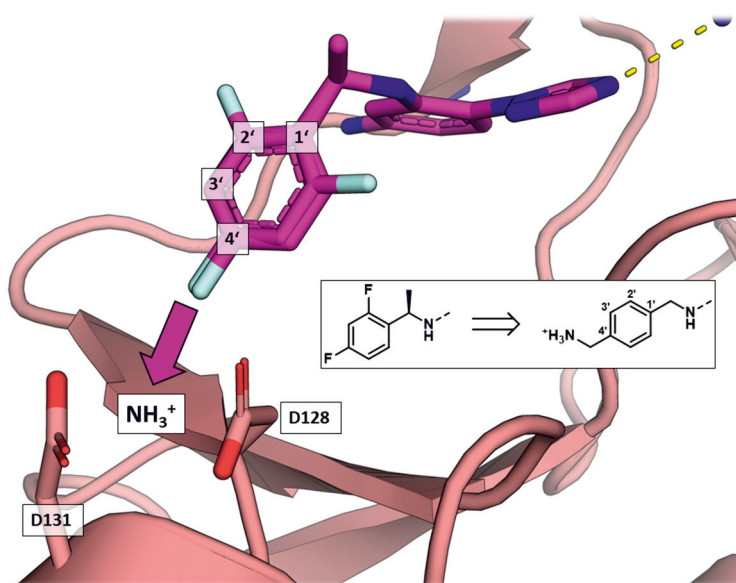
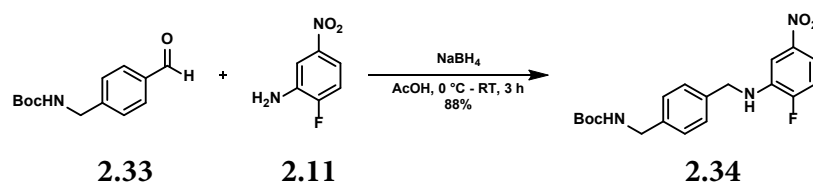


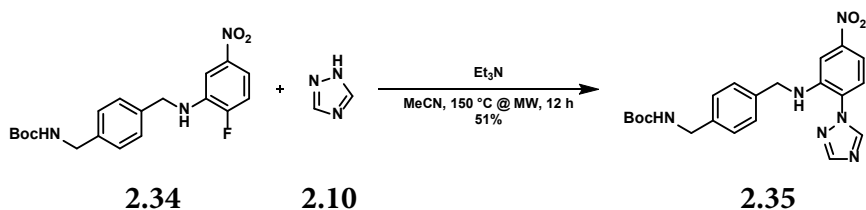
Abb. 2.12: Ausschnitt aus der Kristallstruktur von Verbindung **2.26** im Komplex mit PIM1. Um die Affinität der Verbindung zu verbessern, sollte durch eine Erweiterung zum Benzylamin in 4'-Position eine Wechselwirkung mit den Aminosäuren D128 und D131 vermittelt werden.

Die Synthese der neuen Zielverbindung startete mit der reduktiven Aminierung von *N*-Boc-4-Aminomethylbenzaldehyd (**2.33**) und 2-Fluor-5-nitroanilin (**2.11**) (**Schema 2.16**).



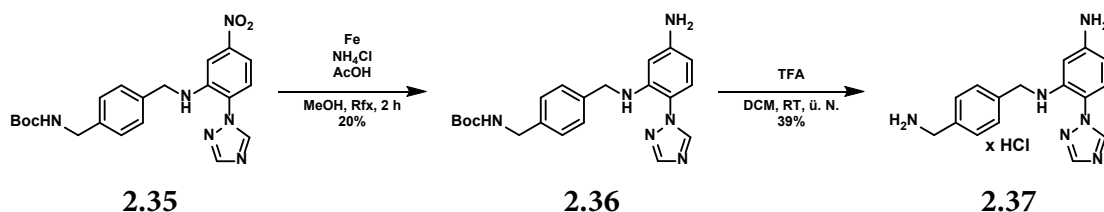
Schema 2.16: Reduktive Aminierung zu Verbindung **2.34**.

Das Produkt **2.34** wurde anschließend in der Mikrowelle mit Triazol zu Verbindung **2.35** umgesetzt (Schema 2.17).



Schema 2.17: Triazol-Substitution in der Mikrowelle zu Verbindung **2.35**.

Dann erfolgte die Reduktion der Nitrogruppe zu **2.36** und im letzten Schritt die Abspaltung der Schutzgruppe mit TFA zur Zielverbindung **2.37** (Schema 2.18).



Schema 2.18: Durch Reduktion der Nitrogruppe zu **2.36** und anschließende Abspaltung der Boc-Gruppe wurde die Zielverbindung **2.37** erhalten.

2.7.2 Literaturgestützte Modifizierung

In einem weiteren Ansatz wurde der Bindungsmodus von **2.26** systematisch mit Kristallstrukturen publizierter PIM1-Inhibitoren verglichen. Dabei wurde speziell nach Verbindungen gesucht, welche einen ähnlichen Bereich der Bindetasche wie der Difluorbenzyl-Rest adressieren. Durch Installation der entsprechenden Molekülteile als neue Substituenten am Amin in 3-Position sollte eine Verbesserung der Affinität bewirkt werden. In diesen Untersuchungen wurde Verbindung **2.38** mit einem IC_{50} -Wert von 1.7 nM als guter Ausgangspunkt für eine solche Vorgehensweise identifiziert (Abb. 2.13)¹²⁸.

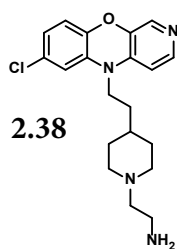


Abb. 2.13: Verbindung **2.38** wurde als vielversprechender Ausgangspunkt für die literaturgestützte Optimierung der 4-Triazol-1-yl-anilin-Grundstruktur identifiziert¹²⁸.

In der Überlagerung der Kristallstrukturen von **2.26** und **2.38** war festzustellen, dass der substituierte Stickstoff in beiden Fällen eine sehr ähnliche Position einnahm (**Abb. 2.14**). Daraus wurde abgeleitet, dass der in Verbindung **2.38** vorhandene Ethyl-2-(*N*-Aminoethylpiperidin-4-yl)-Substituent auch eine sinnvolle Erweiterung für die 4-Triazol-1-yl-anilin-Grundstruktur darstellen könnte. Aufgrund seiner Flexibilität sollte dieser Substituent in der Lage sein, die geringfügigen Unterschiede bezüglich Orientierung und Position der Anknüpfungspunkte auszugleichen. Daher sollte er bei einem Transfer des Substitutionsmusters weiterhin eine Interaktion mit D128 und D131 eingehen können.

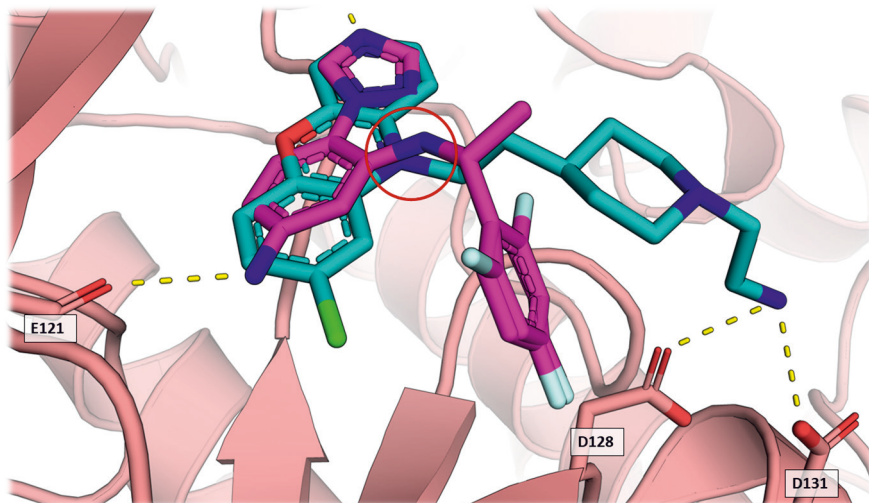
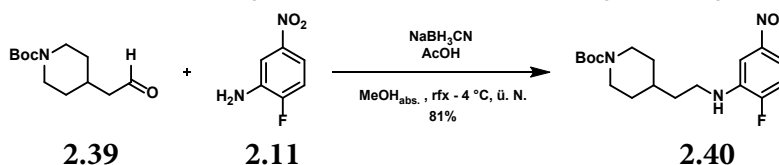


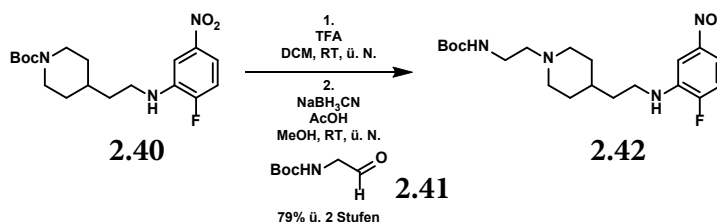
Abb. 2.14: Überlagerung der Kristallstrukturen von Verbindung **2.26** (magenta) und Verbindung **2.38** (cyan) im Komplex mit PIM1. Der substituierte Stickstoff (roter Kreis) nimmt in beiden Fällen eine sehr ähnliche Position ein, was einen Transfer des Substitutionsmusters vielversprechend macht.

Zur Darstellung des entsprechenden Derivates wurde zunächst 2-(*N*-Boc-4-piperidyl)-acetaldehyd (**2.39**) in einer reduktiven Aminierung mit Anilin **2.11** zu Verbindung **2.40** umgesetzt (**Schema 2.19**).



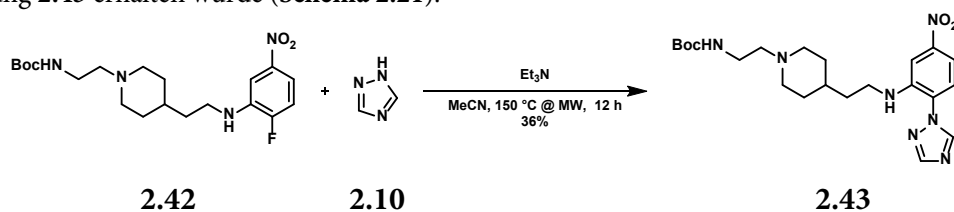
Schema 2.19: Reduktive Aminierung zu Verbindung **2.40**.

Anschließend wurde die Schutzgruppe mit TFA abgespalten und der Ethylamino-Substituent am Piperidyl-Stickstoff durch eine weitere reduktive Aminierung mit *N*-Boc-2-amino-acetaldehyd (**2.41**) eingeführt (**Schema 2.20**).



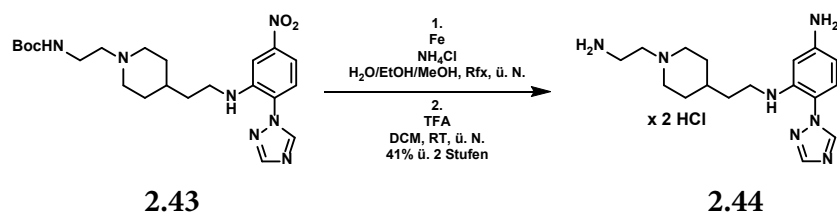
Schema 2.20: Abspaltung der Schutzgruppe und anschließende reduktive Aminierung mit *N*-Boc-2-amino-acetaldehyd (**2.41**) zu Verbindung **2.42**.

Als nächstes wurde in einer Mikrowellen-unterstützten Substitution der Triazol-Rest installiert, wobei Verbindung **2.43** erhalten wurde (**Schema 2.21**).



Schema 2.21: Einführung des Triazol-Restes zu **2.43** durch eine Substitutionsreaktion in der Mikrowelle.

Im letzten Schritt erfolgte die Reduktion der Nitrogruppe mit konsekutiver Abspaltung der Schutzgruppe, sodass schließlich die Zielverbindung **2.44** erhalten wurde (**Schema 2.22**).



Schema 2.22: Reduktion der Nitrogruppe und Abspaltung der Boc-Schutzgruppe zur Zielverbindung **2.44**.

2.8 Testung der biologischen Aktivität

Die Testung der synthetisierten Verbindung wurde von Eurofins® durchgeführt. Es wurde die verbleibende Kinase-Aktivität bei 100 μ M bestimmt (Abb. 2.15).

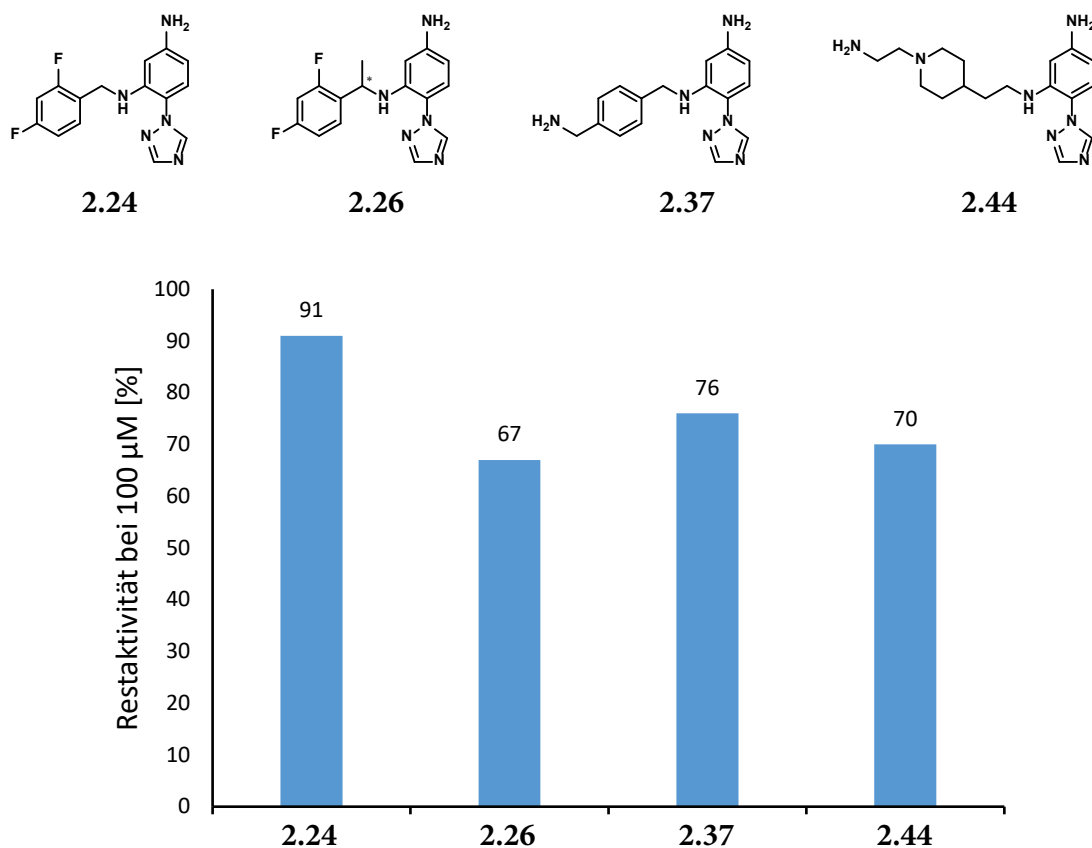


Abb. 2.15: Messung der Aktivität gegen die PIM1-Kinase. Aufgetragen ist die Restaktivität der Kinase bei einer Inhibitor-Konzentration von 100 μ M.

Aus den Messungen ging hervor, dass weder der Ansatz für eine rationale Optimierung (2.37), noch die literaturgestützte Modifizierung der Struktur (2.44) eine substanzielle Steigerung der Affinität bewirken konnten. In beiden Fällen wurde eine leicht gesteigerte Hemmung der Kinase verglichen mit Verbindung 2.24 gemessen. Im Vergleich zu Verbindung 2.26 war jedoch eine Reduktion der Affinität zu verzeichnen, was den Einfluss der zusätzlichen Methylgruppe in dieser Verbindung nochmals unterstreicht. Möglicherweise konnten die zusätzlichen Molekülteile der neuen Derivate ohne diese Stabilisierung der Position des Hauptfragmentes keine vorteilhafte Orientierung einnehmen. Dies ließe sich z. B. durch die Kombination der Strukturen von 2.26 und 2.37 überprüfen. Insgesamt muss jedoch konstatiert werden, dass das Ziel einer signifikanten Erhöhung der Affinität innerhalb dieses Optimierungszyklus nicht erreicht werden konnte.

2.9 Fazit der 2. Serie

Trotz des Wissens über den Bindungsmodus von Verbindung **2.26** war es im Zuge dieser Serie nicht möglich, die zugrundeliegende Struktur weiter zu optimieren. Dafür kommen unterschiedliche Ursachen infrage, über die an dieser Stelle letztlich nur spekuliert werden kann. So hat die zusätzliche Methylgruppe von Verbindung **2.26** möglicherweise eine essentielle Bedeutung für die korrekte Orientierung des Hauptfragmentes in der Bindetasche, was die angestrebte Positionierung des neu eingeführten Restes bei Verbindung **2.37** beeinflussen könnte. Zudem ist denkbar, dass bei dem literaturgestützten Optimierungsansatz **2.44** der kleine Unterschied in der Position des substituierten Stickstoff-Atoms ausreicht, um eine vorteilhafte Orientierung des Substituenten zu verhindern. Die Ergebnisse dieser gescheiterten Optimierungsversuche können dazu beitragen, ein besseres Verständnis für das Bindeverhalten dieser Strukturklasse zu entwickeln. Davon ausgehend wurden weitere Vorschläge für die strukturbasierte Optimierung erarbeitet.

Eine Möglichkeit wäre, zunächst die Grundstruktur selber zu optimieren, um eine sichtbare Verbesserung der Affinität zu bewirken. Mit Verbindung **2.26** steht ein Derivat als Vergleichspunkt zur Verfügung, anhand dessen etwaige Änderungen des Ursprungs-Fragmentes auf ihre Bedeutung für die Aktivität hin untersucht werden können (**Abb. 2.16**).

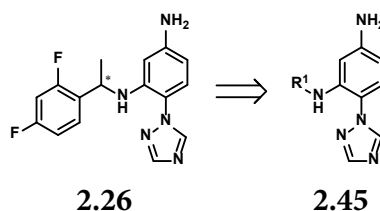


Abb. 2.16: Bei einem konstanten Rest R^1 können die Strukturelemente des Ursprungsfragmentes **2.45** variiert werden. Durch Vergleich mit **2.26** lässt sich die Auswirkung solcher Änderungen auf die Affinität beobachten.

Dies umfasst z. B. eine Modifizierung der Aminogruppe in 1-Position. Für die Interaktion zum Carbonyl-Sauerstoff von E121 wird lediglich ein Wasserstoffatom benötigt, das andere H-Atom stellt potentiell einen H-Brücken-Donor ohne Interaktionspartner im verhältnismäßig unpolaren Bereich der *hinge*-Region dar. Mit dem Austausch eines der H-Atome gegen einen Alkylsubstituenten könnten daher versucht werden, hydrophobe Wechselwirkungen im Bereich der *hinge*-Region zu vermitteln (**Abb. 2.17**). Gleichzeitig könnte dadurch der Affinitätsverlust kompensiert werden, welchen ein H-Brücken-Donor ohne komplementären Wechselwirkungspartner verursacht.

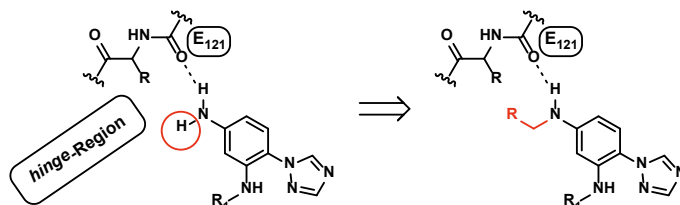


Abb. 2.17: Durch die Einführung eines Alkylrestes würde ein zuvor nicht interagierendes H-Atom eliminiert, gleichzeitig könnten unpolare Wechselwirkungen im Bereich der *hinge*-Region ausgebildet werden.

Weiterhin wäre es möglich, eine Optimierung des Substitutionsmusters im Bereich des Triazols anzustreben. In der ursprünglichen *docking*-Lösung von Verbindung **2.1** wurde postuliert, dass zwischen dem Triazol und der benachbarten Aminogruppe eine intramolekulare H-Brücke ausgebildet wird, welche das System in einer planaren Anordnung stabilisieren sollte¹³⁶. Da jedoch in der Kristallstruktur eine Torsion der beiden aromatischen Ringe gegeneinander beobachtet wurde, liegt die Vermutung nahe, dass diese H-Brücke nicht vorliegt (**Abb. 2.18**).

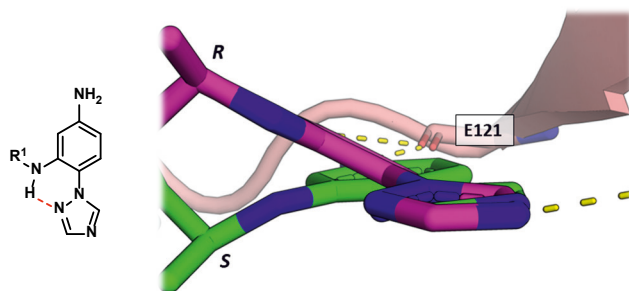


Abb. 2.18: In der *docking*-Hypothese (grün) wurde angenommen, dass eine intramolekulare H-Brücke (rot) zwischen dem Amin in 3-Position und dem benachbarten Triazol ausgebildet würde. In der Kristallstruktur (magenta) wurde jedoch eine Verdrillung der beiden Aromaten festgestellt.

In diesem Falle könnte hier ebenfalls ein H-Brücken-Donor ohne Interaktionspartner vorliegen, was sich vermutlich nachteilig auf die Affinität auswirken würde. Mit einem Austausch des Triazols gegen einen Imidazol-Substituenten (**2.46**) könnte zunächst durch den Entzug des internen Interaktionspartners überprüft werden, ob die potentielle H-Brücke tatsächlich einen Einfluss auf die Affinität der Verbindung hat (**Abb. 2.19**). Alternativ könnte durch den Austausch des H-Atoms gegen eine Methylgruppe (**2.47**) der freie Donor eliminiert, und gleichzeitig die Torsion der beiden Aromaten unterstützt werden.

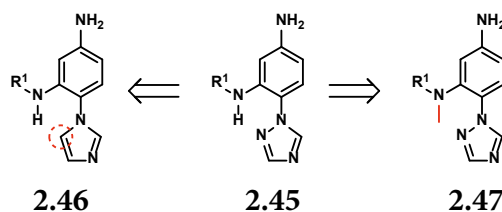


Abb. 2.19: Durch die gezielte Eliminierung der potentiellen H-Brücke könnte ihre Bedeutung für die Bindung ermittelt werden. Dies könnte durch den Austausch des Triazol-Restes gegen ein Imidazol geschehen (**2.46**), oder durch die Methylierung des Amins (**2.47**).

Bezüglich des bereits variierten Substituenten am sekundären Anilin wäre es hilfreich, zunächst eine Kombination aus **2.26** und dem Benzylamin-Derivat **2.37** darzustellen, um eine lineare Vergleichbarkeit dieser Strukturänderung mit der Ursprungsverbindung **2.26** zu gewährleisten (**Abb. 2.20**).

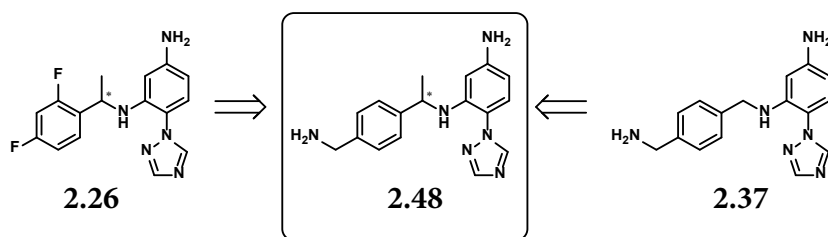


Abb. 2.20: Um eine direkte Vergleichbarkeit zu gewährleisten, sollte ein Derivat **2.48** mit Benzylamin-Erweiterung und Methyl-Substituent synthetisiert werden.

Zudem könnte die Größe des Alkyl-Substituenten am Stereozentrum variiert werden, um das Potential für hydrophobe Interaktionen mit dem *G-loop* auszuschöpfen (**Abb. 2.21**).

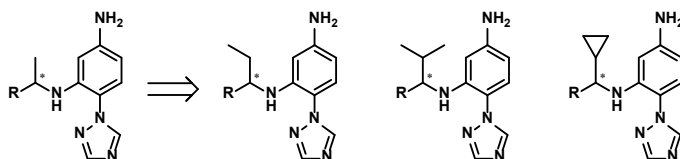


Abb. 2.21: Durch Variation des Alkylrestes am Stereozentrum könnte die Wechselwirkung mit dem *G-loop* optimiert werden.

Ferner wäre es möglich, sich durch systematische Variation des Substituenten einem optimalen Substitutionsmuster anzunähern. Dafür käme z. B. eine Veränderung der Position der Benzylamin-Funktion (**2.49**) oder eine Abwandlung zum Anilin (**2.50**) infrage (**Abb. 2.22**).

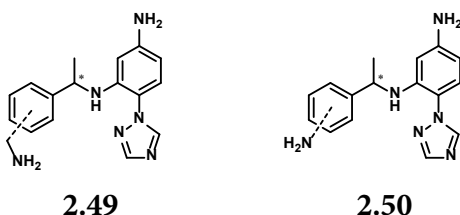


Abb. 2.22: Durch systematische Variation des Substitutionsmusters könnte die Interaktion mit D128 und D131 optimiert werden.

Allgemein besteht also noch eine Reihe von Möglichkeiten, anhand derer eine Optimierung dieser Strukturklasse verfolgt werden könnte. Da bisher jedoch nur eine sehr moderate Affinität erzielbar war, sollte in Betracht gezogen werden, dass die Affinität der Grundstruktur selber möglicherweise nicht ausreicht, um daraus hochaffine Inhibitoren abzuleiten. Falls innerhalb der nächsten Molekülserien keine signifikante Verbesserung der Aktivität erzielt werden kann, muss die Arbeit an dieser Strukturklasse hingegen insgesamt als wenig vielversprechend eingeordnet werden.

3 FRAGMENT-BASIERTE ENTWICKLUNG VON INHIBITOREN

Eine weitere Möglichkeit für die Entwicklung neuer Inhibitoren bietet das Fragment-basierte Wirkstoffdesign (*fragment-based drug design*, FBDD). Wie in Kapitel 1 bereits ausgeführt, werden dabei kleine Moleküle als Ausgangspunkt genutzt, die eine stabile Bindung an das Zielprotein zeigen. Diese Verbindungen erfüllen üblicherweise die sogenannte ‚*rule-of-three*‘ - eine Definition in Anlehnung an Lipinski’s *rule-of-five* zur Vorhersage der oralen Bioverfügbarkeit von Arzneistoffen. Als Fragmente werden demnach Moleküle bezeichnet, deren Molekulargewicht (< 300 Da), Anzahl an H-Brücken-donoren und -akzeptoren (je ≤ 3) und ClogP-Wert (≤ 3) einen bestimmten Wert nicht überschreitet¹³⁷.

Der Vorteil von Fragmenten ist, dass sie diskrete Wechselwirkungen innerhalb der Bindetasche eines Proteins eingehen können (**Abb. 3.1**)¹¹². Bedingt durch ihre geringe Größe besteht eine geringe Gefahr, die Bindung durch weitere, unvorteilhafte Wechselwirkungen zu antagonisieren. Dabei erhofft man sich eine möglichst vorteilhafte Liganden-Effizienz (LE), welche das Verhältnis der freien Bindungsenergie zur Anzahl der Atome (exklusive H-Atome) des Moleküls beschreibt. Allerdings weisen Fragmente oft nur eine geringe Affinität zur Zielstruktur auf und können daher kaum mit biologischen Assay-Systemen als Binder identifiziert werden. Aus diesem Grund werden dafür oft Verfahren wie z. B. Proteinkristallographie angewendet, mit denen auch sehr schwach bindende Moleküle detektiert werden können. Gleichzeitig erlaubt die Aufklärung der Kristallstruktur eine Bestimmung der Bindeposition des jeweiligen Fragmentes und bietet damit Ansatzpunkte für dessen rationale Modifikation. Die geringe Größe der Verbindungen kann jedoch eine verlässliche Positionierung des Liganden im Zuge der Strukturlösung erheblich erschweren.

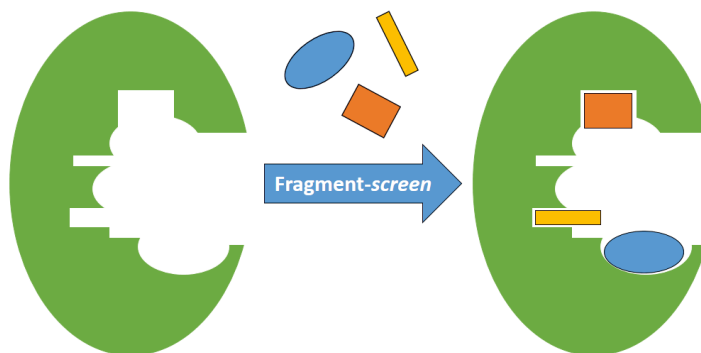


Abb. 3.1: Ausgangspunkt für das FBDD sind kleine Moleküle, die eine Bindung mit bestimmten Strukturen der Bindetasche eingehen können.

Die anschließende Weiterentwicklung von Fragmenten ist nach unterschiedlichen Prinzipien möglich (**Abb. 3.2**). Durch die Identifikation möglicher Interaktionspartner in der Umgebung der Bindetasche können diese mit gezielten Modifikationen der ursprünglichen Struktur adressiert werden (**A**, *fragment growing*). Weiterhin ist die Verknüpfung verschiedener Fragmente über einen *linker* möglich, oder die strukturelle Kombination von unterschiedlichen Fragmenten, die im gleichen Bereich der Bindetasche eine Interaktion eingehen (**B**, *fragment merging*). Ziel ist in allen Fällen eine Aufsummierung der Interaktionen aller Bestandteile, sodass die resultierenden Verbindungen eine höhere Affinität zum Zielprotein aufweisen. Es sollte jedoch darauf geachtet werden, dass die

Modifizierung der Struktur keine Änderung der Bindeposition des Fragmentes bewirkt, da eine solche häufig mit einem Affinitätsverlust verbunden ist.

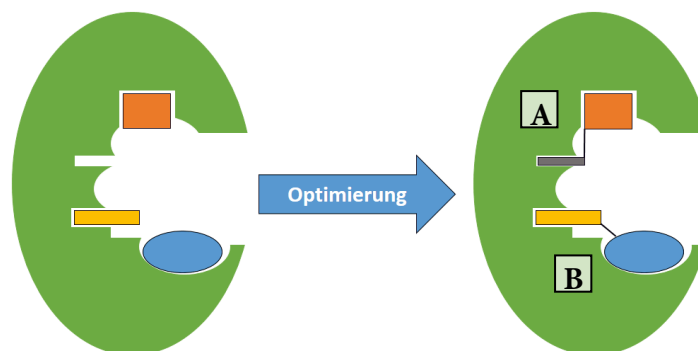


Abb. 3.2: Nach der Identifizierung von bindenden Fragmenten werden diese zu Molekülen mit höherer Affinität weiterentwickelt. Das kann z. B. durch (A) gezielte Modifikation der Struktur zur Adressierung weiterer Bereiche der Bindetasche, oder durch (B) die Verknüpfung mehrerer Fragmente geschehen.

Im Rahmen der Vorarbeiten, auf die sich dieses Projekt stützt, wurde von DR. CHRISTOF SIEFKER (AG KLEBE, Philipps-Universität Marburg) ein kristallographischer Fragment-screen durchgeführt¹³⁸. Dabei wurde eine Reihe von Fragmenten mit stabiler Bindung an die PIM1-Kinase identifiziert. Die manuelle Inspektion dieser Röntgenstrukturen und der Vergleich mit literaturbekannten PIM1-Inhibitoren ergaben, dass Fragment *f200* einen guten Ausgangspunkt für die Fragment-basierte Entwicklung eines Inhibitors darstellt (Abb. 3.3).

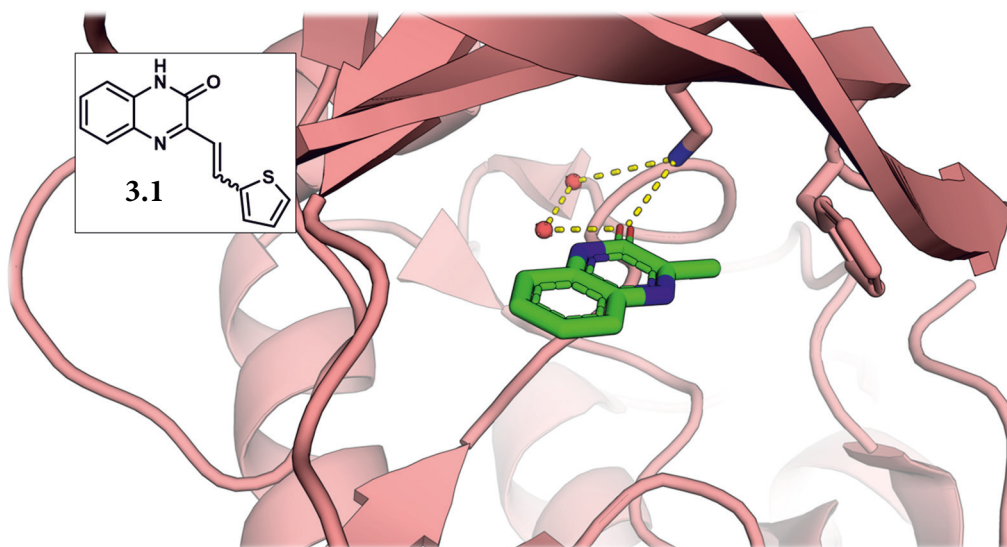
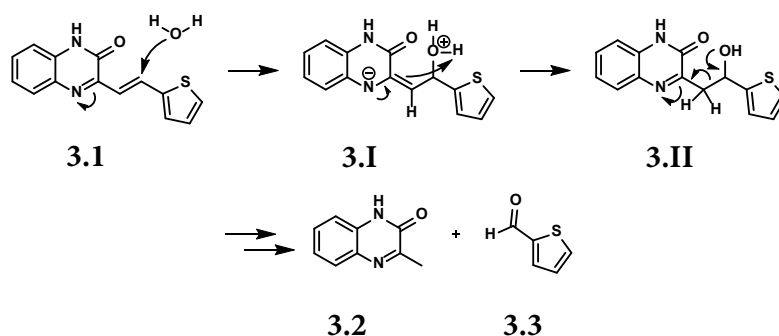


Abb. 3.3: Kristallstruktur von Fragment *f200* (grün) im Komplex mit PIM1 (PDB: 5NDT)¹³⁸. Die Orientierung des Thiophen-Teils konnte aufgrund fehlender Elektronendichte nicht bestimmt werden.

Eine Besonderheit dieses Fragmentes war, dass nicht für das gesamte Molekül in der Röntgenstruktur Elektronendichte gefunden wurde, sondern nur für den Quinoxalin-Teil. Dies war vermutlich auf eine hydrolytische Spaltung des ursprünglichen Moleküls zurückzuführen, bei der die Doppelbindung zwischen Quinoxalin und Thiophen getrennt wurde (Schema 3.1). Somit wurde für den weiteren Verlauf des Projektes angenommen, dass es sich bei Quinoxalin 3.2 um das tatsächlich vorhandene Molekül und nicht um eine unvollständig aufgelöste Struktur handelt.



Schema 3.1: Mechanismus der postulierten Hydrolyse des ursprünglichen *f200*-Moleküls (3.1) zu einem Quinoxalin- (3.2) und einem Thiophen-Bestandteil (3.3).

Maßgebliche Wechselwirkung für die Bindung von 3.2 ist eine H-Brücke zu K67, welches bereits in Kapitel 1 als essentieller Bindungspartner für potentielle Inhibitoren identifiziert wurde. In der Überlagerung von „*f200*“ und dem PIM1-Inhibitor 3.4 war zu erkennen, dass das Fragment die Position des Zimtsäure-Teils des Inhibitors einnahm (Abb. 3.4)¹²¹. Damit bot sich die Möglichkeit, durch Modifikation an C5 einen ähnlichen Bereich der Bindetasche zu adressieren wie der Inhibitor mit seinem Homopiperazin-Teil. Aus diesem Grund wurde unter anderem das Vorhandensein funktioneller Gruppen, welche analoge Wechselwirkungen eingehen konnten, für die Auswahl der später zu synthetisierenden Derivate herangezogen.

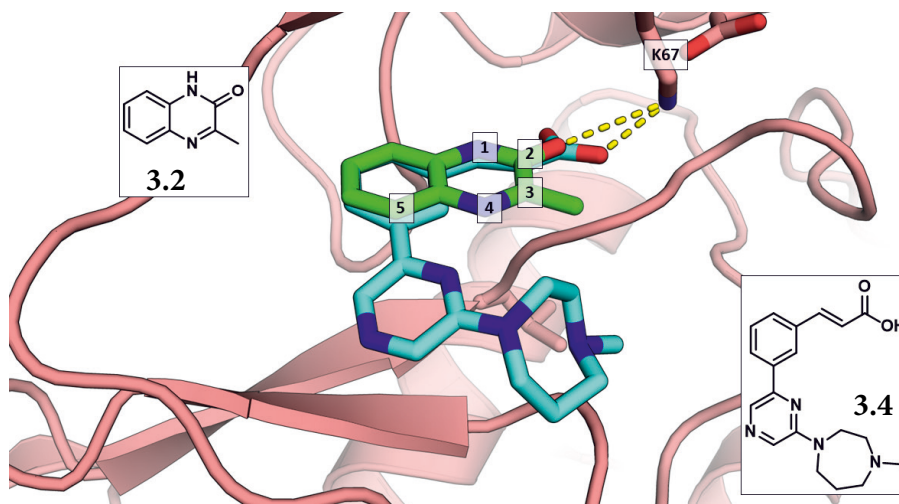


Abb. 3.4: Überlagerung der Kristallstrukturen von „*f200*“ (grün, PDB: 5NDT¹³⁸) und dem literaturbekannten PIM1-Inhibitor 3.4 (cyan, PDB: 3F2A¹²¹) im Komplex mit PIM1. Das Quinoxalin nimmt die gleiche Position wie der Zimtsäure-Teil des Inhibitors ein, damit bietet sich eine Modifikation an C5 für die Weiterentwicklung der Struktur an.

Die bereits vorhandene Interaktion mit K67 in Kombination mit einem vielversprechenden Ansatz für die Weiterentwicklung zur Verbesserung der Affinität (Expansion an C5) machten dieses Fragment zu einem attraktiven Ausgangspunkt für die fragment-basierte Entwicklung neuer Inhibitoren.

3.1 Fragment-basiertes *virtual screening*

Im ersten Schritt wurde das Quinoxalin **3.2** von DR. COREY TAYLOR (AG KOLB, Philipps-Universität Marburg) mit PINGUI (*Python in silico de novo growing utilities*) in 5-Position modifiziert¹³⁹. Dieses Programm erlaubt die Generierung von Derivaten durch die Verknüpfung von Bausteinen auf Grundlage ihrer chemischen Struktur. Dafür können 37 robuste chemische Reaktionen *in silico* angewendet werden. In diesem Fall wurde 5-Bromquinoxalin (**3.5**) anhand einer passenden Reaktionen mit einer Auswahl entsprechender Vorläufer zu virtuellen Derivaten verknüpft (**Abb. 3.5**). Aus den resultierenden Produkten wurde eine Bibliothek erzeugt, welche mittels *docking* nach vielversprechenden Kandidaten durchsucht wurde, um diese für die biologische Testung zugänglich zu machen.

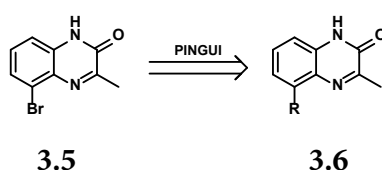
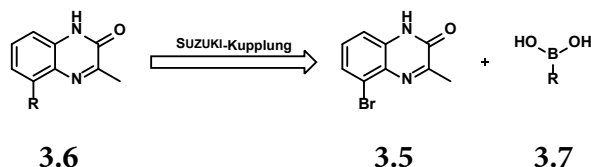


Abb. 3.5: Das Programm PINGUI verknüpfte **3.5** in 5-Position mit einer Reihe von unterschiedlichen Bausteinen. Dies geschah *in silico* anhand von Reaktionen, bei denen ein Arylhalogenid als Edukt eingesetzt werden kann.

3.1.1 Synthese

Als Verknüpfungsreaktion für die Generierung der Derivate wurde eine SUZUKI-Kupplung gewählt, sodass 5-Bromquinoxalin und kommerziell verfügbare Boronsäuren als Edukte für die Synthese potentieller Zielverbindungen zum Einsatz kommen sollten (**Schema 3.2**).



Schema 3.2: Die zu synthetisierenden Derivate wurden retrosynthetisch auf eine SUZUKI-Kupplung zurückgeführt.

Mittels PINGUI wurde das 5-Bromquinoxalin *in silico* mit den bei MolPort® verfügbaren Boronsäuren verknüpft, die generierten Derivate in die PIM1-Kinase *gedockt* und anschließend die Lösungen evaluiert. Anschließend erfolgte ein Auswahlprozess, bei dem der postulierte Bindungsmodus auf Plausibilität untersucht und die Durchführbarkeit der Synthese abgeschätzt wurde. Hierbei wurde unter anderem die hydrolytische Stabilität berücksichtigt, da die Kupplung bei hohen Temperaturen (> 100 °C) in wässriger Base abläuft. Weiterhin musste der neu eingeführte Molekülteil laut *docking* eine zusätzliche Interaktion mit dem Protein eingehen. Anhand dieser Kriterien wurde eine Auswahl an Verbindungen getroffen, die mittels SUZUKI-Reaktion synthetisiert werden sollten (**Abb. 3.6**).

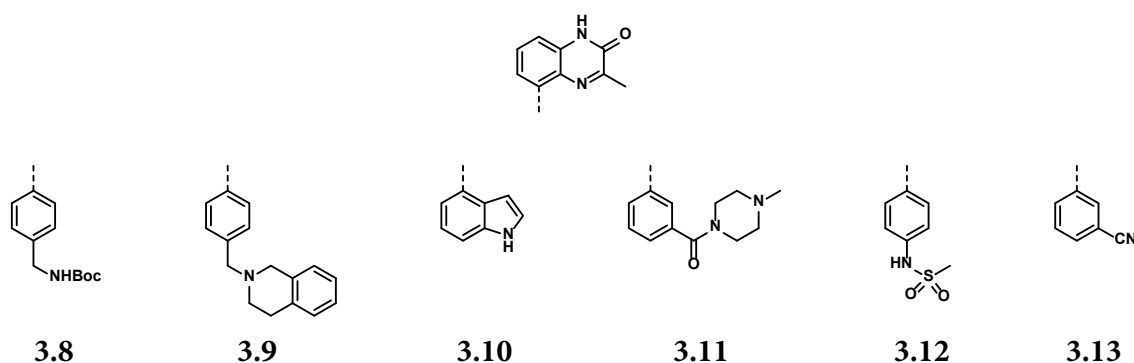
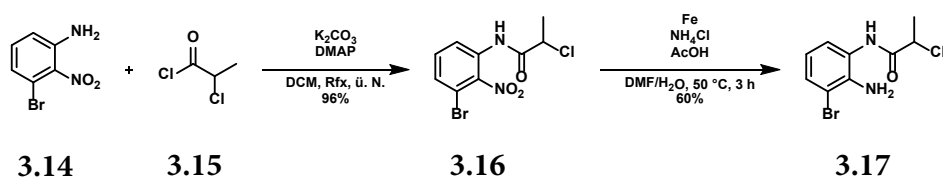


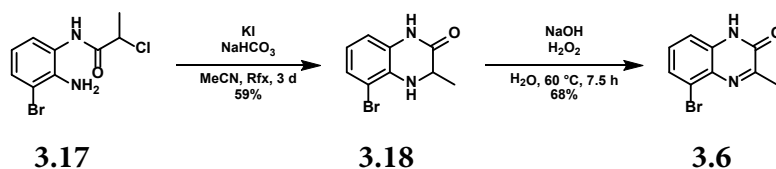
Abb. 3.6: Zu synthetisierende Auswahl an Quinoxalin-Derivaten, welche einen plausiblen Bindungsmodus aufwiesen und als ausreichend hydrolysestabil bewertet wurden.

Im Vorlauf der Kupplungsreaktionen musste zunächst eine Synthese für das 5-Bromquinoxalin etabliert werden¹⁴⁰. Diese begann mit einer Amid-Bildung aus 3-Brom-2-nitroanilin (**3.14**) und 2-Chlorpropionylchlorid (**3.15**), anschließend wurde die Nitrogruppe von **3.16** in einer BÉCHAMP-Reduktion zum Anilin **3.17** reduziert (**Schema 3.3**). Der zweite Schritt war dabei in präparativer Hinsicht herausfordernd, da das Produkt **3.17** nur eine eingeschränkte Löslichkeit in den gängigen organischen Lösungsmitteln aufwies. Dies stellte insbesondere für die Aufreinigung im größeren Maßstab ein erhebliches Problem dar, welches erst durch schrittweise Optimierung der Aufarbeitungsprozedur (z. B. Filtration über Seesand, Umstellung von MPLC auf *flash*-Chromatographie) zur Zufriedenheit gelöst werden konnte.



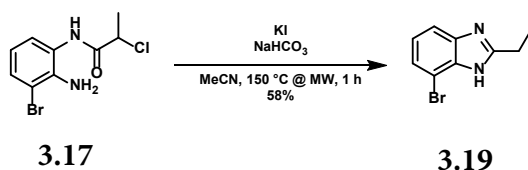
Schema 3.3: Im ersten Schritt erfolgte eine DMAP-katalysierte Amid-Bildung zu **3.16**. Im Anschluss wurde die Nitrogruppe zu Anilin **3.17** reduziert¹⁴⁰.

Als nächstes erfolgte der Ringschluss durch eine nukleophile Substitution des Anilins am Chloralkyl-Rest und schließlich die Oxidation des Ringes mit H_2O_2 zu 5-Bromquinoxalin (**3.6**) (**Schema 3.4**). Bei der Substitution konnte auch durch weitere Verlängerung der Reaktionszeit keine Verbesserung der Ausbeute erreicht werden.



Schema 3.4: Ringschluss durch nukleophile Substitution und anschließende Oxidation der entstandenen Bindung zur zentralen Synthesestufe 5-Bromquinoxalin (**3.6**)¹⁴⁰.

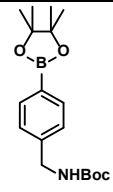
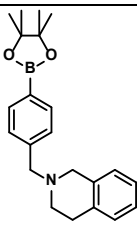
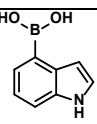
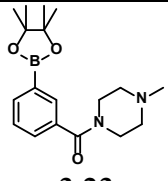
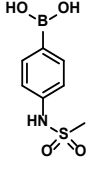
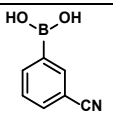
Aufgrund der langen Reaktionszeit wurde zudem der Versuch unternommen, die Zyklisierung bei erhöhten Temperaturen in der Mikrowelle (MW) durchzuführen. In diesem Falle wurde jedoch stattdessen in einer Kondensationsreaktion das entsprechende Benzimidazol **3.19** gebildet (**Schema 3.5**).



Schema 3.5: Beim Versuch, den Ringschluss in der MW durchzuführen, wurde stattdessen eine Kondensation zum Benzimidazol **3.19** beobachtet.

Nach der erfolgreichen Synthese von 5-Bromquinoxalin (**3.6**) wurde dieses durch eine SUZUKI-Kupplung in der Mikrowelle mit kommerziell erworbenen Boronsäure-Derivaten verknüpft, sodass die Zielverbindungen **3.8** - **3.13** erhalten wurden (**Tab. 3.1**). Dabei mussten z. T. die Reaktionsbedingungen (Base, Katalysator, LM, Zeit) angepasst werden, um ausreichend Umsatz zu erreichen.

Tab. 3.1: Durchgeführte SUZUKI-Reaktionen zur Synthese der Zielverbindungen.

Verbindung	Boronsäure	Reaktionsbedingungen ¹⁴¹	Ausbeute [%]
3.8	 3.20	Tetrakis Na_2CO_3 DME/ H_2O , 120 °C, 3 h	57
3.9	 3.21	[Pd(dppf) Cl_2] x DCM Na_2CO_3 DME/ H_2O , 150 °C, 1 h	24
3.10	 3.22	Tetrakis Na_2CO_3 DME/ H_2O , 130 °C, 2 h	84
3.11	 3.23	Tetrakis Na_2CO_3 DME/ H_2O , 120 °C, 3 h	29
3.12	 3.24	Tetrakis Na_2CO_3 DME/ H_2O , 120 °C, 3 h	54
3.13	 3.25	[Pd(dppf) Cl_2] x DCM K_3PO_4 H_2O Dioxan, 120 °C, 3 h	41

3.1.2 Testung der biologischen Aktivität

Die Testung der synthetisierten Verbindung wurde von Eurofins® durchgeführt. Verbindung 3.8 konnte nicht berücksichtigt werden, da diese keine ausreichende Löslichkeit im wässrigem Medium unterschiedlicher Puffer aufwies. Es wurde die verbleibende Kinase-Aktivität bei 100 μM bestimmt (Abb. 3.7).

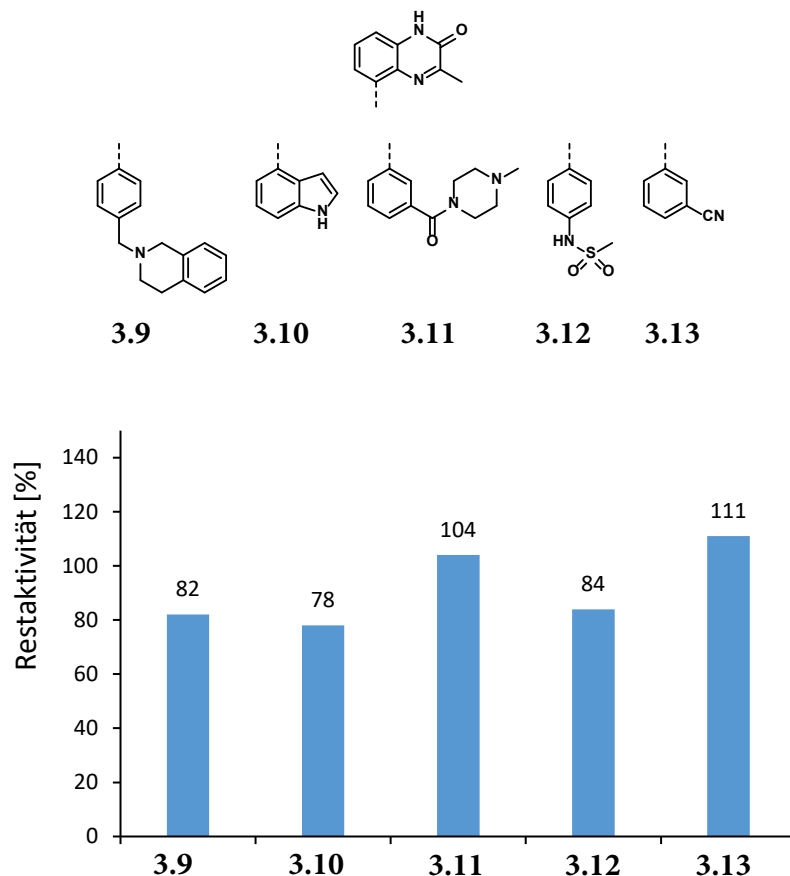


Abb. 3.7: Messung der Aktivität gegen die PIM1-Kinase. Aufgetragen ist die Restaktivität der Kinase bei einer Inhibitor-Konzentration von 100 μM .

Leider war festzustellen, dass keines der Moleküle einen signifikanten Einfluss auf die Aktivität der PIM1-Kinase hatte, obwohl alle Verbindungen beim *docking* einen plausiblen Bindungsmodus gezeigt hatten. Diese Diskrepanz warf eine grundsätzliche Frage nach der Aussagekräftigkeit der *docking*-Ergebnisse auf.

Ausgangspunkt für das Design der Derivate war die Kristallstruktur des Fragmentes *f200*, sodass der dort postulierte Bindungsmodus die Grundlage für die gerichtete Erweiterung der Struktur bildete. Schon die Tatsache, dass nicht das komplette Fragment in der Kristallstruktur aufgelöst war, musste in dieser Hinsicht als kritisch bewertet werden. Nur aufgrund der rationalen Erklärung dieses Sachverhaltes anhand der postulierten Hydrolyse-Reaktion war dieser Umstand zunächst hingenommen worden. Der ausbleibende Erfolg bei der Ableitung von Inhibitoren aus der Quinoxalin-Grundstruktur rückte die Fragmentstruktur jedoch erneut in den Fokus der Betrachtungen.

Ungenauigkeiten bei der Interpretation der Elektronendichte – z. B. in Form einer fehlerhaften Positionierung des Liganden oder fehlender Berücksichtigung multipler Bindungsmodi – hätten erhebliche Konsequenzen für den Erfolg nachgelagerter Optimierungsversuche. Aus diesem Grund erschien es geboten, die für das *docking* getroffene Grundannahme (Bindungsmodus von *f200*) vor der Synthese weiterer Derivate zu überprüfen.

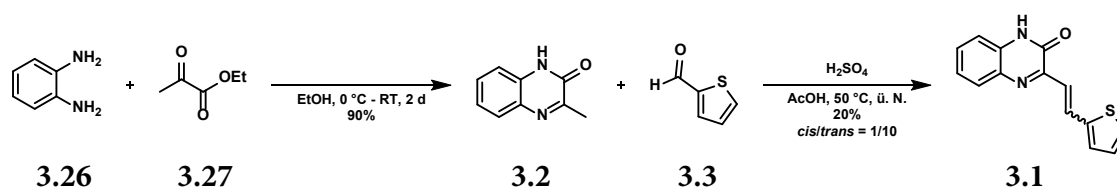
3.2 Evaluation der Fragment-Kristallstruktur

Mit Hinblick auf die Bedeutung des Fragment-Bindungsmodus für die Weiterentwicklung der Struktur sollte dieser durch eine erneute röntgenkristallographische Analyse validiert werden. Zu diesem Zweck wurden das ursprüngliche Fragment *f200* (**3.1**) sowie dessen hydrolysierte Quinoxalin-Form **3.2** neu synthetisiert und von PHIL HOCHBAN (AG DIEDERICH) jeweils röntgenkristallographisch im Komplex mit der PIM1-Kinase untersucht.

In der Folge sollte ein Vergleich der beobachteten Bindungsmodi mit der ursprünglichen Fragment-Struktur Aufschluss darüber geben, ob die Synthese weiterer Derivate auf Grundlage der *docking*-Ergebnisse erfolgversprechend sein könnte. Bei einer Bestätigung des Bindungsmodus wären die *docking*-Lösungen als valide anzusehen, bei einer Änderung müssten die vorhergesagten *docking*-Posen erneut kritisch beleuchtet werden. Weiterhin sollten sich auch Rückschlüsse darauf ziehen lassen, ob im Vorfeld der initialen Kristallstruktur tatsächlich eine Hydrolyse von *f200* aufgetreten war.

3.2.1 Synthese

Im ersten Syntheseschritt wurde durch Reaktion von *o*-Phenylendiamin (**3.26**) und Ethylpyruvat (**3.27**) das verkürzte Quinoxalin **3.2** aufgebaut (Schema 3.6)¹⁴². Dieses wurde anschließend in einer säurekatalysierten Kondensation mit Thiophen-2-carbaldehyd (**3.3**) zum ursprünglichen Fragment (**3.1**) umgesetzt. Das Produkt wurde dabei als *cis/trans*-Gemisch im Verhältnis 1/10 erhalten, was anhand des ¹H-NMR-Spektrums gezeigt werden konnte¹⁴³.



Schema 3.6: Synthese der beiden Quinoxalin-Fragmente. Bei der Kondensation mit Thiophen-2-carbaldehyd wurde ein *cis/trans*-Gemisch als Produkt erhalten¹⁴².

3.2.2 Proteinkristallstruktur mit 3.1 und 3.2

Alle in diesem Kapitel diskutierten Proteinkristallstrukturen gehen – sofern nicht anders vermerkt – auf PHIL HOCHBAN (AG DIEDERICH, Philipps-Universität Marburg) zurück. Die Diskussion der jeweiligen Bindungsmodi erfolgte in dieser Arbeit nur in einem Maße, wie es für die Nachvollziehbarkeit der weiteren Synthesen erforderlich ist. Für genauere Informationen zur Expression, Kristallisation und Röntgenstrukturanalyse sowie einer ausführlichen Diskussion der Bindungsmodi sei auf seine Dissertationsschrift verwiesen.

Die Röntgenkristallstruktur des neu synthetisierten Ursprungsfragmentes **3.1** im Komplex mit PIM1 zeigte, dass ausschließlich das *cis*-Isomer der Verbindung gebunden hatte (**Abb. 3.8**). Dies war umso erstaunlicher, da laut NMR ein erheblich größerer Anteil der Substanz in der *trans*-Konfiguration vorlag. Die Ursache dafür könnte z. B. in einem erheblichen Affinitätsunterschied zwischen den Isomeren liegen.

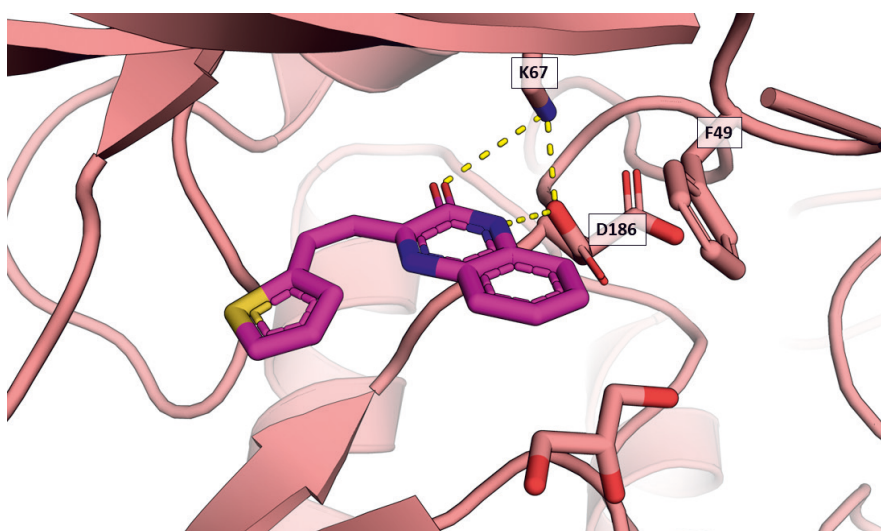


Abb. 3.8: Kristallstruktur des neu synthetisierten **3.1** (magenta) im Komplex mit PIM1. Nur das *cis*-Isomer ist gebunden.

Zudem war der Quinoxalin-Teil des Moleküls anders orientiert als in der ursprünglichen Kristallstruktur von *f200*, wie durch die Überlagerung der beiden Strukturen ersichtlich ist (**Abb. 3.9**). Es musste also grundsätzlich davon ausgegangen werden, dass die Quinoxalin-Struktur keine konservierte Bindungsposition hat, sondern abhängig vom Substitutionsmuster unterschiedliche Orientierungen einnehmen kann.

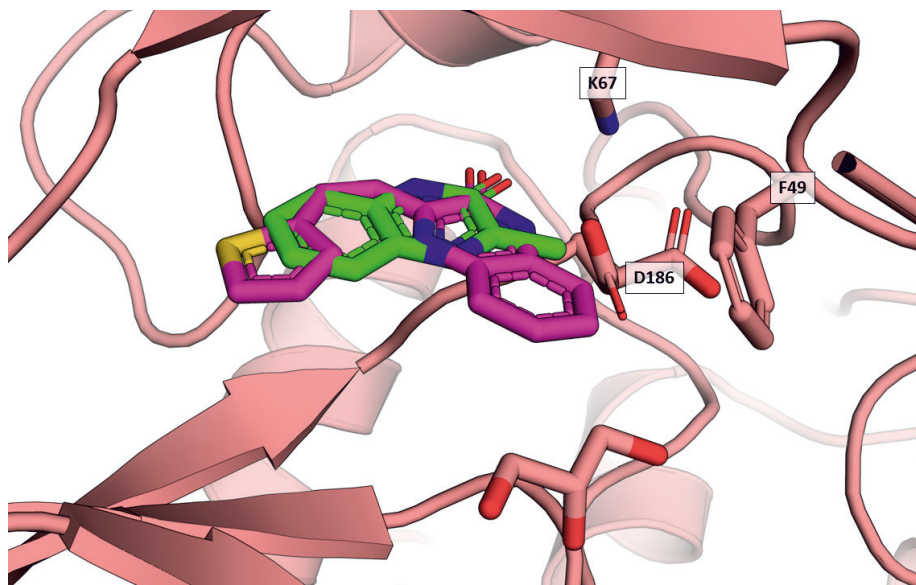


Abb. 3.9: Überlagerung der Kristallstrukturen des neu synthetisierten **3.1** (magenta) und *f200* (grün, PDB: 5NDT¹³⁸) im Komplex mit PIM1. Der Quinoxalin-Teil ist in den beiden Fällen jeweils unterschiedlich orientiert.

Auch im Fall des neu synthetisierten **3.2** wurde eine weitere Röntgenkristallstruktur bestimmt, um die Möglichkeit unterschiedlicher Bindungsmodi zu überprüfen. Darin war ebenfalls eine andere Orientierung des Liganden im Vergleich zum hydrolysierten *f200* zu beobachten, die eher dem Bindungsmodus des neu synthetisierten *f200* mit Thiophenrest entsprach (**Abb. 3.10**).

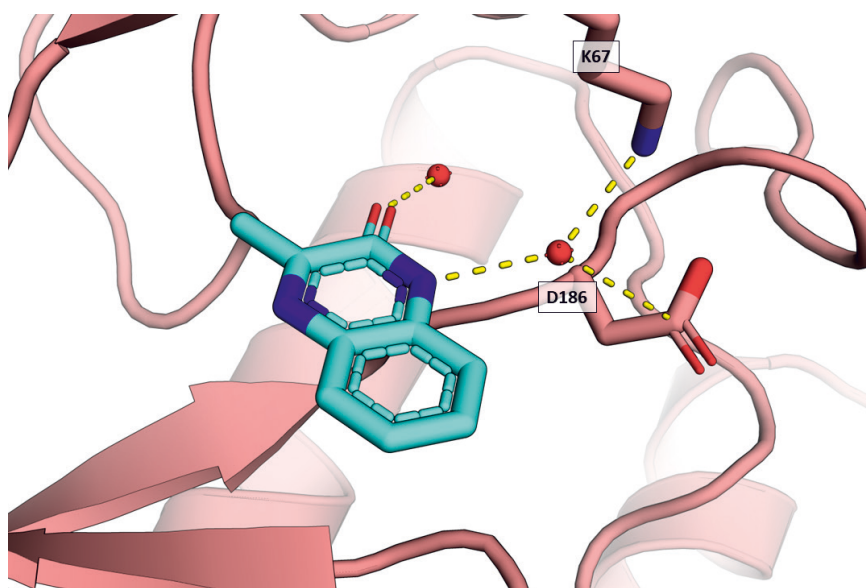


Abb. 3.10: Neu bestimmte Kristallstruktur des verkürzten Quinoxalin-Fragmentes **3.2** (cyan) im Komplex mit PIM1.

Die Überlagerung mit der ursprünglichen Fragment-Kristallstruktur 5NDT¹³⁸ zeigte, dass in beiden Fällen die wichtige Interaktion zu K67 gleichermaßen möglich war (**Abb. 3.11**). Demzufolge wurden beide Bindungsmodi als plausibel bewertet und eine Mischpopulation aus den zwei Orientierungen angenommen, zumal bei der Überlagerung der Strukturen keine gravierenden Unterschiede in der Struktur des Proteinrückgrats festzustellen waren.

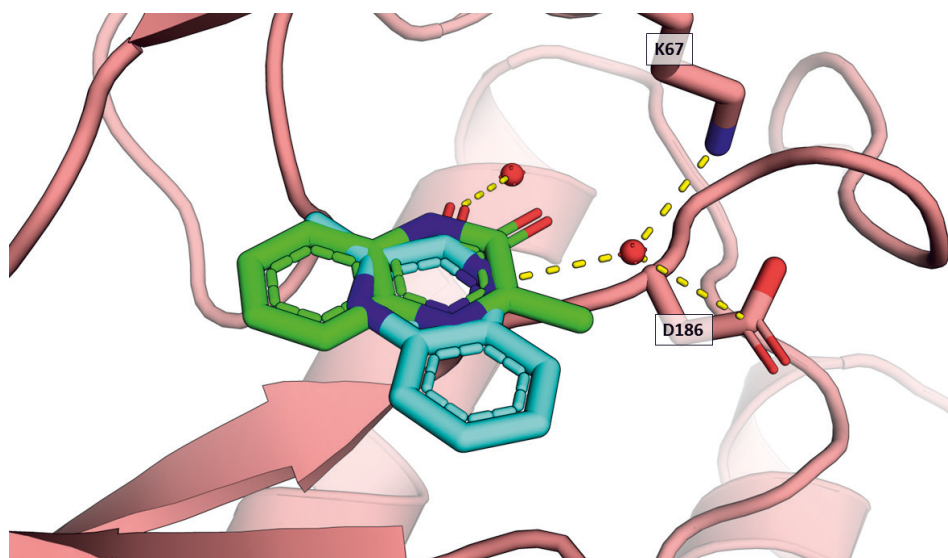


Abb. 3.11: Überlagerung der Kristallstrukturen von *f200* (grün, PDB: 5NDT¹³⁸) und des neu synthetisierten Quinoxalins (cyan) im Komplex mit PIM1. Obwohl es sich um das gleiche Molekül handeln sollte, wurden zwei unterschiedliche Bindungsmodi festgestellt.

Diese Annahme stellte eine erhebliche Änderung der ursprünglichen Bedingungen für die *docking*-Versuche dar und liefert zugleich eine Erklärung für die niedrige Aktivität der synthetisierten Derivate. Für das Design und die Bewertung der Quinoxalin-Derivate war ausschließlich der ursprüngliche Bindungsmodus berücksichtigt worden, welcher jedoch möglicherweise nicht die günstigste Bindeposition des Fragmentes widerspiegelte. Davon ausgehend musste die Synthese weiterer Verbindungen aus den Ergebnissen dieser ersten *docking*-Versuche als wenig erfolgversprechend bewertet werden.

3.3 Rationale SAR

Wie bereits eingangs dieses Kapitels erwähnt, kann die zuverlässige Positionierung des Liganden bei der Proteinkristallographie mit Fragmenten aufgrund der geringen Größe der Moleküle erheblich erschwert sein. Die Identifizierung der unterschiedlichen Bindungsmodi des Quinoxalins wurde zum Anlass genommen, einen Paradigmenwechsel für die Weiterentwicklung des Fragmentes zu vollziehen. Anstatt die Bindepose des Fragmentes als Ausgangspunkt für die Entwicklung von Derivaten zu verwenden, sollte eine systematische, ligandenbasierte Erforschung der Bindetasche und somit die Ableitung einer Struktur-Wirkungs-Beziehung (*structure-activity relationship*, SAR) erfolgen. Dies schien auch aus dem Grund geboten, da das Substitutionsmuster anscheinend – wie im Falle des neu synthetisierten **3.1** – einen erheblichen Einfluss auf den beobachteten Bindungsmodus hatte, was das Treffen zuverlässiger *docking*-Vorhersagen zusätzlich erschwerte.

Für die Bestimmung einer SAR wird die Struktur des Ausgangsmoleküls systematisch modifiziert und die Auswirkung dieser Modifikationen auf die biologische Aktivität untersucht. Dadurch ist keine Kenntnis der Proteinstruktur oder des Bindungsmodus notwendig. Stattdessen können anhand der Aktivitätsunterschiede zwischen den Derivaten Rückschlüsse auf die strukturelle Umgebung der Bindetasche gezogen werden (**Abb. 3.12**)^{8,144}. Eine direkte Vergleichbarkeit der Affinitäten wäre dabei

nur bei einem stabilen Bindungsmodus sinnvoll, im Falle des Quinoxalins sollte anhand der Affinität ein solcher erst identifiziert werden. Bei einer hohen Affinität war davon auszugehen, dass eine stabile Bindeposition vorlag.

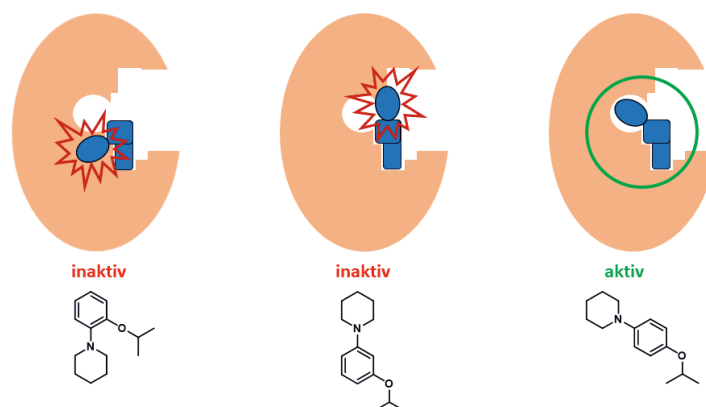


Abb. 3.12: Schematische Darstellung einer SAR an einem fiktiven Beispiel. Abhängig von seiner Position im Molekül behindert oder fördert der Piperidin-Rest die Bindung an das Protein. Dieser Zusammenhang spiegelt sich in der gemessenen Affinität wider.

Aufgrund der nahezu unbegrenzten Fülle an möglichen Strukturmodifikationen werden zunächst unterschiedliche Bereiche in der Struktur definiert und angelehnt an die Ursprungsstruktur separat variiert (**Abb. 3.13**). Erst am Ende findet die Kombination der jeweils besten Struktur motive zu einem neuen Inhibitor statt. Dieses Vorgehen erfordert einen hohen synthetischen Aufwand, daher werden oftmals retrosynthetisch sinnvolle Bruchstellen zur Definition der unterschiedlichen Strukturbereiche herangezogen.

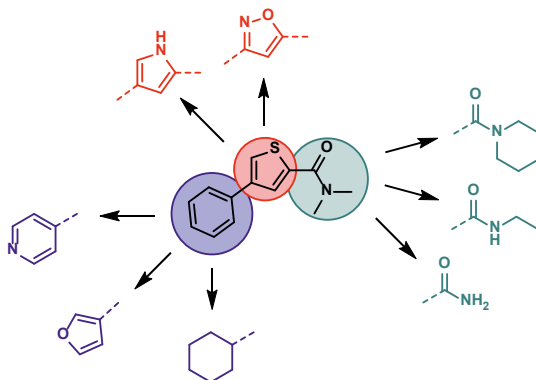


Abb. 3.13: Variation der unterschiedlichen Bereiche eines Moleküls im Zuge einer SAR.

Im vorliegenden Fall sollten sinnvolle Erweiterungen für das Quinoxalin-Grundgerüst gefunden werden, welche eine Stabilisierung des Bindungsmodus bewirken. Um den synthetischen Aufwand für diesen Ansatz einzugrenzen, wurde die Kristallstruktur auf mögliche Interaktionspartner (Aminosäuren) untersucht, die mit der Installation bestimmter chemischer Gruppen gezielt adressiert werden konnten. Dabei wurde D128 als vielversprechendes Ziel für entsprechende Wechselwirkungen identifiziert (**Abb. 3.14**). Dieses hatte bereits im Falle des Zimtsäure-basierten Inhibitors **Verbindung 1** eine Interaktion zum basischen Homopiperazin gezeigt (**Abb. 3.4**). Aus diesem Grund

sollten Wechselwirkungen mit Aminen oder Anilinen möglich sein, welche mit einem entsprechenden *linker* in 5- oder 6-Position des Quinoxalins angebracht würden. Im Falle der bereits synthetisierten Derivate **3.9** - **3.13** konnte zu diesem Zeitpunkt nicht eindeutig bestimmt werden, ob die flexible Orientierung des Quinoxalins tatsächlich der Grund für die ausbleibende Aktivität war. Auch die Auswahl von eher ungünstigen Substitutionsmustern kam als Ursache infrage, sodass die 5-Position nicht als grundsätzlich ungeeignet für die Erweiterung der Struktur eingeschätzt wurde. Daher wurden die entsprechenden Derivate im Rahmen der SAR ebenfalls untersucht.

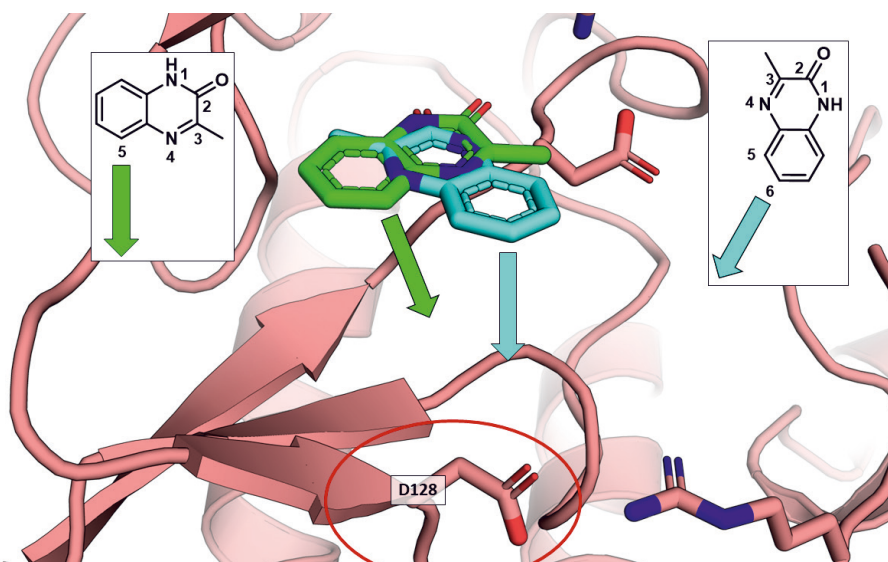


Abb. 3.14: Ausgehend von den jeweiligen Kristallstrukturen sollte durch Erweiterung des Quinoxalins in 5- oder 6-Position eine gezielte Adressierung von D128 (Kreis) mit Aminogruppen erfolgen.

Der Vorteil dieser Vorgehensweise lag darin, dass sie unabhängig vom Wissen um die Populationsverteilung der beiden beobachteten Bindepasen war. Es spielte für den Ansatz keine Rolle, welche der beiden beobachteten Orientierungen den günstigeren Bindungsmodus darstellte. Durch systematische Überprüfung aller plausiblen Substitutionsmuster konnte die beste Variante anhand der Aktivität gegen die PIM1-Kinase identifiziert werden. Durch die Einführung eines Substituenten sollte die entsprechende Verbindung zudem eine stabile Orientierung des Quinoxalins im Bindungsmodus aufweisen, da von beiden Molekülteilen eine Interaktion mit dem Protein zu erwarten war. Die Lösung der Röntgenkristallstruktur im Komplex mit dem Zielprotein könnte dann die Voraussetzungen für eine rationale Weiterentwicklung der Verbindung schaffen.

Für die systematische Suche nach dem besten Substitutionsmuster wurden zwei Quinoxalin-Serien synthetisiert. Diese beinhalteten jeweils für die Substitution in 5- oder 6-Position (5-Quinoxalin und 6-Quinoxalin) eine Reihe von Derivaten mit verschiedenen Anilin- oder Benzylamin-Erweiterungen (**Abb. 3.15**). Damit sollte ein Spektrum von Interaktionspartnern abgebildet werden, welches sich in der Position der funktionellen Gruppe (5- oder 6-Position + *ortho/meta/para*) sowie der Polarität unterschied.

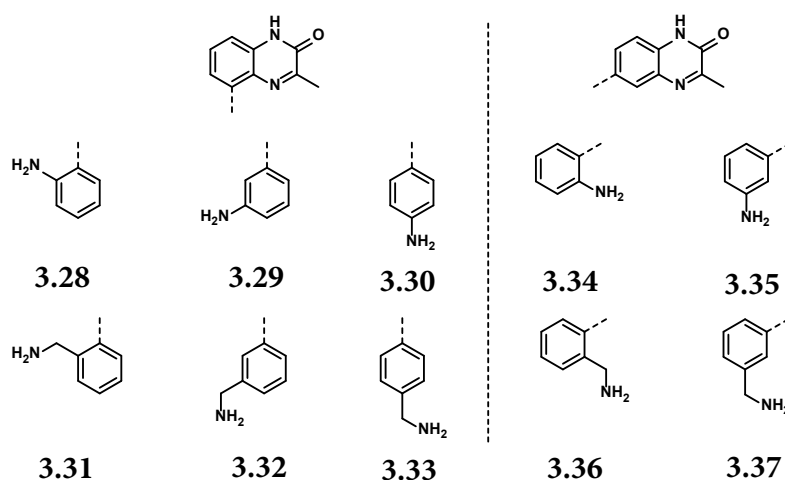


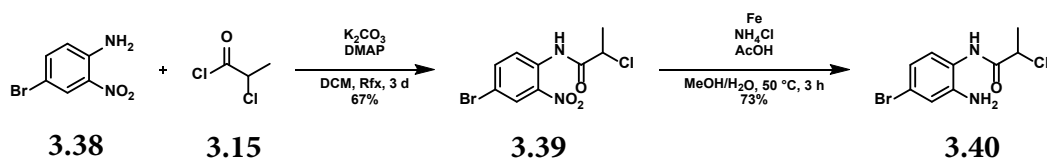
Abb. 3.15: Zielverbindungen zur Bestimmung der SAR.

Die Anilin-Derivate sollten durch ihre polarisierten NH-Bindungen H-Brücken ausbilden können, bei physiologischem pH-Wert jedoch keine Ladung tragen. Die Benzylamine sollten hingegen unter diesen Bedingungen eine positive Ladung aufweisen und daher z. B. ladungsgestützte H-Brücken bilden können. Um weiterhin die bereits etablierte Reaktionsführung mittels SUZUKI-Kupplung nutzen zu können, wurde ein Phenyl-linker für die Einführung der Gruppen ausgewählt. Dies hatte den Vorteil, dass bereits synthetisiertes 5-Bromquinoxalin weiterverwendet werden konnte. Zudem war die Synthese des entsprechenden 6-Brom-Derivates anhand einer analogen Synthesesequenz möglich.

Auf die *p*-substituierten Verbindungen wurden im Fall der 6-Position zugunsten zeitlicher Effizienz verzichtet, da diesen – ausgehend von der Kristallstruktur – für beide möglichen Bindeposen des Quinoxalins kaum Chancen auf eine vorteilhafte Interaktion eingeräumt wurde. Eine nachträgliche Synthese dieser beiden Verbindungen sollte erfolgen, falls keines der zunächst synthetisierten Derivate eine signifikante Aktivität aufwies.

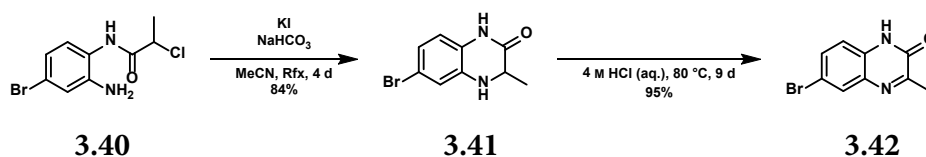
3.3.1 Synthese

Für die Derivate mit Substitution in 6-Position musste zunächst der entsprechende Quinoxalin-Vorläufer synthetisiert werden¹⁴⁰. Dessen Synthese startete analog zum 5-Bromquinoxalin mit einer Amidbildung aus 4-Brom-2-nitroanilin (**3.38**) und Chlorpropionylchlorid (**3.15**), gefolgt von einer Reduktion der Nitrogruppe von **3.39** (Schema 3.7). Durch die Verwendung von MeOH anstatt von DMF als Teil des Lösungsmittelgemisches bei der Reduktion konnte ein Extraktionsschritt eingespart werden, was die Ausbeute deutlich verbesserte.



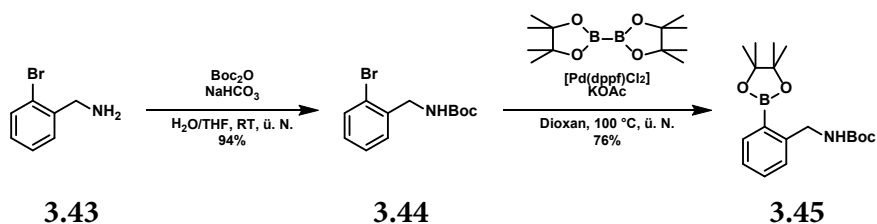
Schema 3.7: Amidbildung und Reduktion der Nitrogruppe als erste Schritte der Synthese des 6-Bromquinoxalins¹⁴⁰.

Anschließend wurden der Ringschluss des Anilins **3.40** und schließlich die Oxidation zum Quinoxalin **3.42** durchgeführt (**Schema 3.8**). Letztere lief in 4 M HCl (aq.) bei hohen Temperaturen ohne zusätzliches Oxidationsmittel ab, auch wenn dafür lange Reaktionszeiten notwendig waren. Es ist anzunehmen, dass in der Luft enthaltenes O₂ in diesem Falle als Oxidationsmittel dient. Zudem wäre die vorgelagerte sauerstoff-vermittelte Oxidation von HCl denkbar, sodass in diesem Falle das entstehende Cl₂ als Oxidationsmittel wirken könnte. Diese Reaktion ist zwar eher in Form einer Übergangsmetall-katalysierten Reaktion gängig, jedoch sollte sie aufgrund der hohen Reaktionstemperatur (80 °C) und langen Reaktionszeit (9 d) zumindest in Betracht gezogen werden¹⁴⁵. Insgesamt scheint es sich um eine relativ spezifische Reaktion zu handeln, da die Reaktionsbedingungen zumindest auf die Synthese des 5-Br-Quinoxalins nicht übertragbar waren.



Schema 3.8: Ringschluss und Oxidation zum fertigen 6-Bromquinoxalin (**3.42**). Der letzte Schritt lief ohne zusätzliches Oxidationsmittel in HCl (aq.) ab¹⁴⁰.

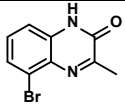
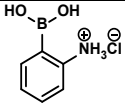
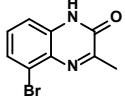
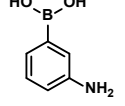
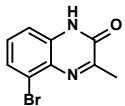
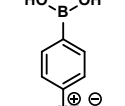
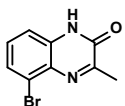
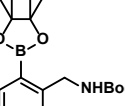
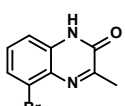
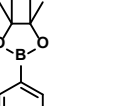
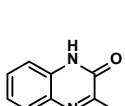
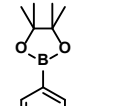
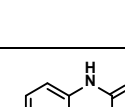
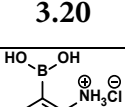
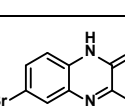
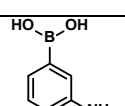
Für die Synthese der verschiedenen Varianten war zudem eine Reihe von Boronsäure-Derivaten notwendig, welche aufgrund sehr hoher Beschaffungspreise z. T. selber synthetisiert wurden (Verbindung **3.45**: ca. 300 €/g bei abcr®). Ausgehend vom entsprechenden Brombenzylamin **3.43** wurde zunächst eine Boc-Schützung durchgeführt, gefolgt von einer MIYAUURA-Borylierung zum Boronsäurepinakolester **3.45** (**Schema 3.9**)^{146,147}.

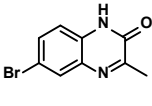
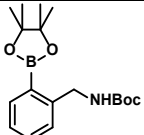
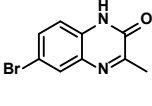
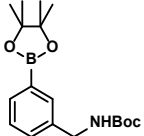


Schema 3.9: Boc-Schützung und anschließende MIYAUURA-Borylierung zur Synthese der benötigten Boronsäure-Derivate^{146,147}.

Analog dazu wurde aus 3-Brombenzylamin (**3.46**) mit Ausbeuten von 100% für die Boc-Schützung zu **3.47** und 83% für die Borylierung das entsprechende Boronsäure-Derivat **3.48** synthetisiert, alle anderen benötigten Boronsäuren konnten kommerziell erworben werden. Danach erfolgte die Synthese der Zielverbindungen und Vorstufen durch SUZUKI-Kupplung in der Mikrowelle (**Tab. 3.2**).

Tab. 3.2: Durchgeführte SUZUKI-Kupplungen zur Synthese der SAR-Verbindungen.

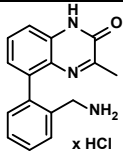
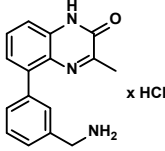
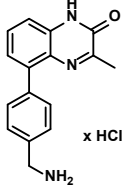
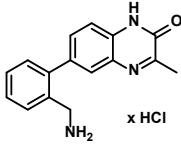
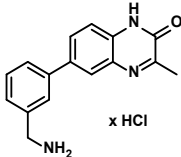
Verbindung	Quinoxalin	Boronsäure	Reaktionsbedingungen ¹⁴¹	Ausbeute [%]
3.28		 3.49	[Pd(dppf)Cl ₂] x DCM Na ₂ CO ₃ DME/H ₂ O, 150 °C, 1 h	79
3.29		 3.50	[Pd(dppf)Cl ₂] x DCM Na ₂ CO ₃ DME/H ₂ O, 150 °C, 1 h	43
3.30		 3.51	[Pd(dppf)Cl ₂] x DCM Na ₂ CO ₃ DME/H ₂ O, 150 °C, 1 h	64
3.52		 3.45	Tetrakis Na ₂ CO ₃ DME/H ₂ O, 120 °C, 3 h	59
3.53		 3.48	Tetrakis Na ₂ CO ₃ DME/H ₂ O, 120 °C, 3 h	74
3.8		 3.20	Tetrakis Na ₂ CO ₃ DME/H ₂ O, 120 °C, 3 h	57
3.34		 3.49	Tetrakis Na ₂ CO ₃ DME/H ₂ O, 150 °C, 1.5 h	54
3.35		 3.50	Tetrakis Na ₂ CO ₃ DME/H ₂ O, 130 °C, 2 h	35

3.54		 3.45	Tetrakis Na ₂ CO ₃ DME/H ₂ O, 120 °C, 3 h	58
3.55		 3.48	Tetrakis Na ₂ CO ₃ DME/H ₂ O, 120 °C, 3 h	52

Tab. 3.3 (Fortsetzung): Durchgeführte SUZUKI-Kupplungen zur Synthese der SAR-Verbindungen.

Bei den Kupplungsprodukten der Benzylamin-Derivate wurden im Anschluss die Boc-Schutzgruppen mit TFA abgespalten und die Zielverbindungen zur Verbesserung der Löslichkeit in die entsprechenden Hydrochloride überführt (**Tab. 3.4**).

Tab. 3.4: Durchgeführte Boc-Entschützungen zu den Benzylamin-Zielverbindungen.

Verbindung	Struktur	Reaktionsbedingungen	Ausbeute [%]
3.31		TFA DCM, RT, ü. N.	95
3.32		TFA DCM, RT, ü. N.	93
3.33		TFA DCM, RT, ü. N.	39
3.36		TFA DCM, RT, ü. N.	76
3.37		TFA DCM, RT, ü. N.	88

3.3.2 Testung der biologischen Aktivität

Die Testung der synthetisierten Verbindung wurde von Eurofins® durchgeführt. Es wurde die verbleibende Kinase-Aktivität bei 100 μM bestimmt (Abb. 3.16).

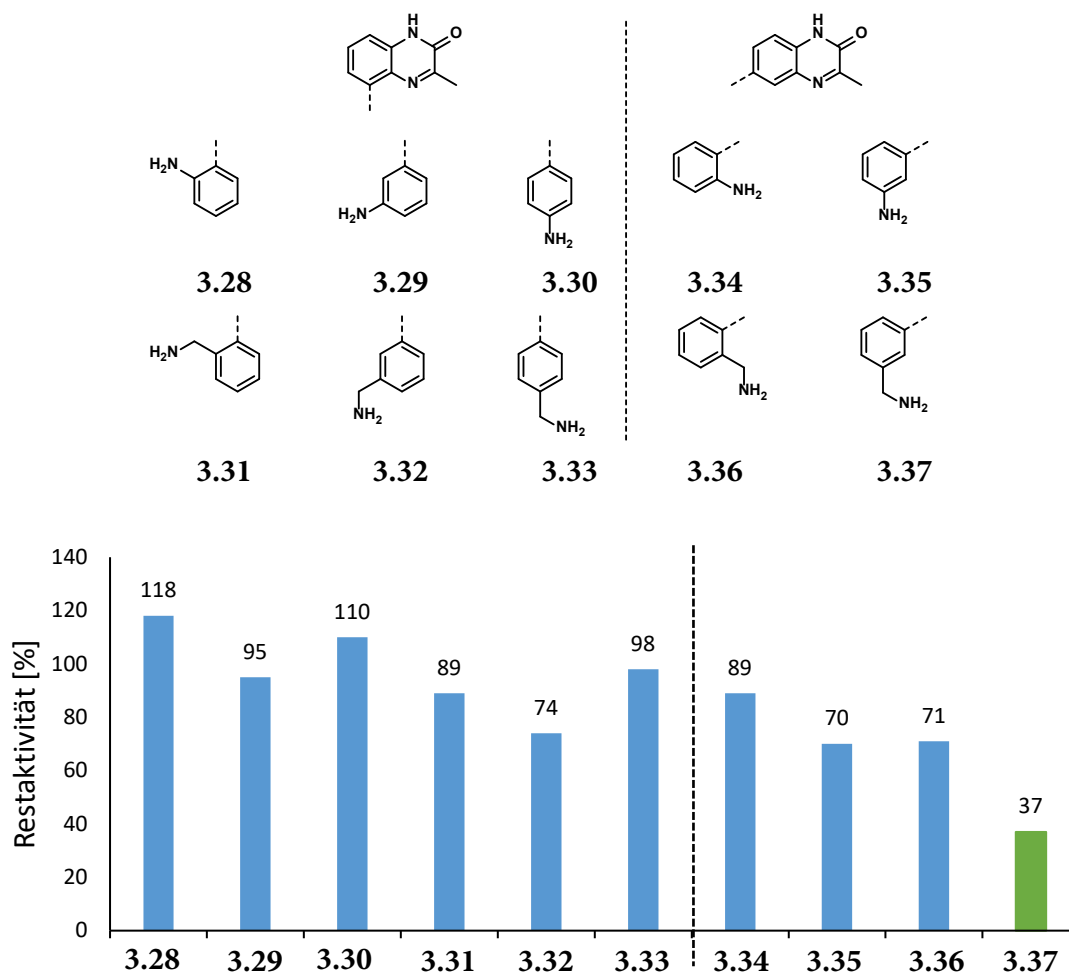


Abb. 3.16: Messung der Aktivität gegen die PIM1-Kinase. Aufgetragen ist die Restaktivität der Kinase bei einer Inhibitor-Konzentration von 100 μM .

Im Falle der Substitution in 5-Position des Quinoxalins wies keines der Anilin-Derivate eine nennenswerte Aktivität gegen das Zielenzym auf. Die entsprechenden Benzylamin-Derivate zeigten im Schnitt eine etwas stärkere Aktivität, wobei das *m*-Derivat **3.32** mit 74% Restaktivität die stärkste Hemmwirkung hatte.

Im Fall der 6-Quinoxaline war generell eine etwas höhere Aktivität zu beobachten als bei den entsprechenden 5-Derivaten. Tatsächlich war für das *m*-Benzylamin-Derivat **3.37** mit 37% Restaktivität und einem IC_{50} -Wert von 89 μM die beste Hemmwirkung aller gemessenen Quinoxaline feststellbar. Dieses sollte damit eine ausreichend hohe Affinität aufweisen, um den Bindungsmodus anhand einer Kristallstruktur bestimmen zu können. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse könnten für die rationale Weiterentwicklung dieser Substanzklasse genutzt werden. Bisher konnte jedoch leider noch keine aussagekräftige Kristallstruktur von Verbindung **3.37** im Komplex mit der PIM1-Kinase gewonnen werden.

3.4 Fazit

Ursprünglich sollten im Rahmen dieses Projektes Verbindungen hergestellt werden, welche ausgehend von der Kristallstruktur eines Quinoxalin-Fragments *in silico* erzeugt und anschließend mittels *docking* als vielversprechend bewertet worden waren. Die synthetisierten Derivate zeigten jedoch keine nennenswerte Aktivität gegen die PIM1-Kinase, was zum Anlass genommen wurde, die zugrundeliegende Kristallstruktur nochmals zu überprüfen. Dabei wurde ein zweiter Bindungsmodus des Fragmentes entdeckt, welcher von der ursprünglichen Bindepose deutlich abwich. Es musste deshalb angenommen werden, dass die virtuell erzeugten Derivate auf einer falschen oder mindestens unvollständigen Bindungshypothese beruhten. Daher wurde die Synthese der entsprechenden Verbindungen nicht weiterverfolgt.

Stattdessen wurde ein neuer Ansatz gewählt, bei dem in Form einer rationalen SAR die Struktur des Fragmentes systematisch variiert wurde. Dies geschah unter Berücksichtigung der strukturellen Umgebung der Bindetasche des Proteins. Das Ziel war dabei, D128 mittels geeigneter chemischer Gruppen zu adressieren und durch die zusätzliche Wechselwirkung den Bindungsmodus der Verbindung zu stabilisieren, was sich in einer höheren biologischen Aktivität ausdrücken sollte. Gleichzeitig wäre mit einem diskreten Bindungsmodus die Grundlage für eine rationale Weiterentwicklung der Struktur geschaffen.

Im Zuge dieser Bemühungen konnte Verbindung **3.37** mit einem IC_{50} -Wert von $89\ \mu M$ als vielversprechender Ausgangspunkt für die weitere Entwicklung identifiziert werden. Bisher konnte zwar der Bindungsmodus nicht durch eine Proteinkristallstruktur aufgeklärt werden, aber auch bereits anhand der bisher gewonnenen Erkenntnisse ist eine Weiterentwicklung der Struktur möglich.

Eine dieser Möglichkeiten liegt in der Kombination von **3.37** mit der ursprünglichen Struktur von *f200*. Durch die Einführung des Thiophen-Restes (**3.56**) könnte eine zusätzliche Stabilisierung des Bindungsmodus erfolgen (**Abb. 3.17**). Sollte sich die Hydrolyseempfindlichkeit dieser Strukturvariante bestätigen, könnte auch eine anschließende Reduktion der Doppelbindung (**3.57**) in Erwägung gezogen werden. Zudem wäre eine Substitution mit einer Reihe unterschiedlicher aromatischer Systeme an dieser Stelle denkbar.

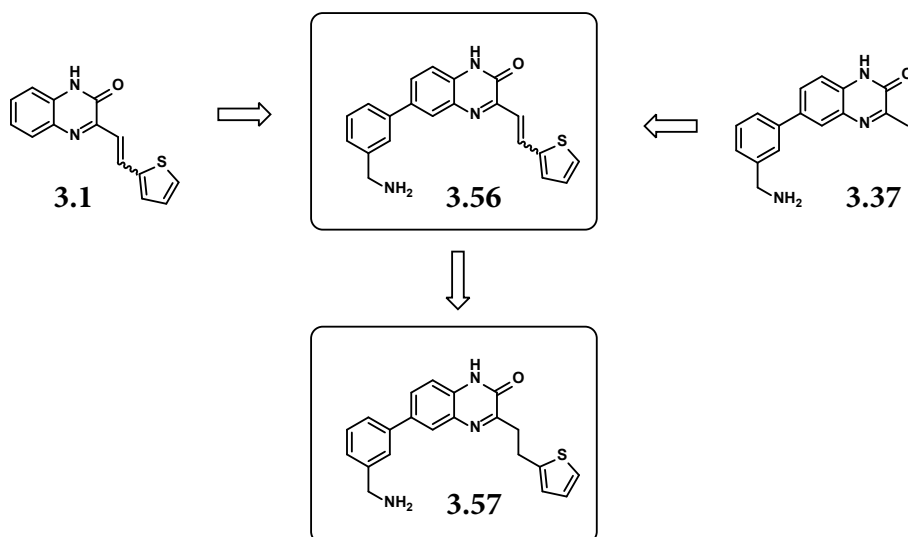


Abb. 3.17: Möglichkeit zur Weiterentwicklung der 6-Quinoxaline durch Kombination der Ergebnisse aus SAR und röntgenkristallographischer Analyse.

Weiterhin könnte eine Optimierung der Gruppe erfolgen, über welche mutmaßlich die Interaktion zu D128 vermittelt wird. Dazu sollten verschiedene Substitutionsmuster der neu eingeführten Amino-Funktion überprüft werden. Dies umfasst Varianten mit unterschiedlichem Alkylierungsgrad, aber auch die Verwendung gesättigter *N*-Heterozyklen (**Abb. 3.18**).

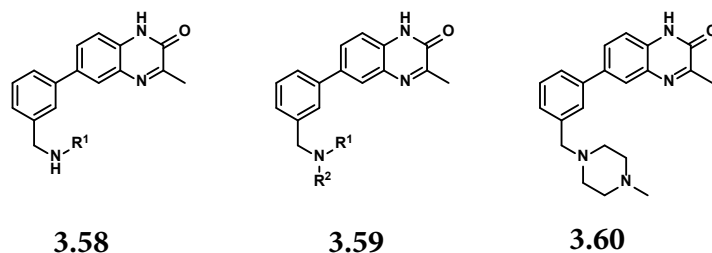
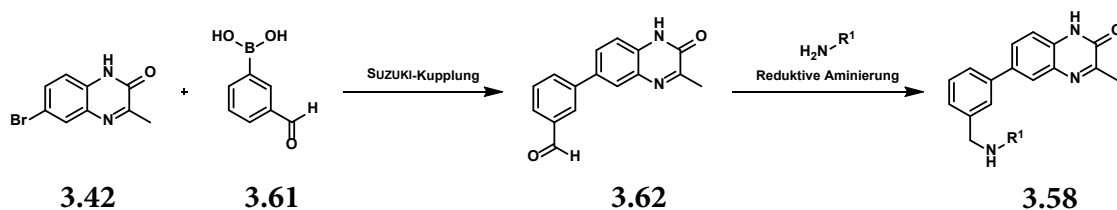


Abb. 3.18: Möglichkeiten zur Derivatisierung der neu eingeführten Amino-Funktion.

Um die Synthese der entsprechenden Verbindungen zu erleichtern, bietet sich die Synthese von Aldehyd **3.62** als Vorläufer an. Dieser könnte im großen Maßstab hergestellt werden und anschließend durch reduktive Aminierung zu den entsprechenden Zielverbindungen umgesetzt werden (**Schema 3.10**). Durch eine solche *late-stage* Derivatisierung würde der synthetische Aufwand für die Darstellung unterschiedlicher Derivate erheblich reduziert.



Schema 3.10: Möglicher Syntheseweg für eine effiziente *late-stage* Funktionalisierung in der Position des Amins.

Insgesamt bieten sich damit unterschiedlichste Möglichkeiten, Verbindung **3.37** weiter zu optimieren. Sollte sich der Bindungsmodus anhand einer Kristallstruktur aufklären lassen, könnte auch wieder auf strukturbasierte Methoden zurückgegriffen werden, um die Optimierung der verschiedenen Molekülteile effizient voranzutreiben.

Der Verlauf dieses Projektes zeigt, dass die Suche nach potentiellen Inhibitoren – auch bei denkbar guten Voraussetzungen wie einer existierenden Ligand-Protein-Komplexstruktur – selten ein leichtes Unterfangen ist. In jeder Phase der Entwicklung muss mit dem Auftreten von Problemen gerechnet werden, und nicht alle davon sind mit den gleichen Mitteln lösbar. So stellten die zwei unterschiedlichen Bindungsmodi von **3.2** für die computergestützte Weiterentwicklung ein schwerwiegendes Hindernis dar und hätten damit das Scheitern des Projektes bedeuten können. Durch den Paradigmenwechsel in der Entwicklung konnte dieses Problem mit verhältnismäßig geringem Aufwand überwunden werden, sodass nunmehr eine Reihe von Optionen für die weitere Optimierung zur Verfügung stehen.

Das Projekt dient als Beispiel dafür, dass die Entscheidung für rationale, strukturbasierte Entwicklung oder computergestützte Methoden keinesfalls einen absoluten Charakter für den Verlauf eines Projektes haben sollte. Abhängig von den Entwicklungsfortschritten und gegebenen Grundbedingungen sollte vielmehr in jeder Projektphase erneut abgewogen werden, welcher Ansatz dem Fortschritt des Projektes am ehesten dienlich sein kann. Dies bedeutet auch, dass sich synthetisch und informatisch arbeitende Chemiker der Schwächen ihrer eigenen sowie der Stärken der jeweils anderen Disziplin bewusst sein sollten, um zu jeder Zeit das Beste aus beiden Ansätzen in die Entwicklung einbringen zu können.

Die computergestützte Entwicklung bietet erhebliche Vorteile bei der schnellen Durchmusterung einer großen Anzahl an möglichen Derivaten. Zugleich ist sie eher in der Lage, neue Interaktionsmuster aufzudecken. Gleichwohl ist sie jedoch abhängig von einer Reihe an Informationen, welche die Basis für die *docking*-Versuche bilden. Sollten diese Informationen – wie im Falle dieses Projektes – unvollständig oder nichtzutreffend sein, beeinträchtigt dies die Qualität aller erzeugten Ergebnisse.

Im Gegensatz dazu können mit einem empirischen Vorgehen wie einer SAR Informationen über bevorzugte Strukturmuster gewonnen werden, ohne einen vorherigen *Input* zu benötigen. Durch den synthetischen Ansatz ist es jedoch nicht möglich, so große Mengen an Verbindungen zu untersuchen wie mit informatischen Methoden. Zudem wird meist eine vergleichsweise niedrige strukturelle Diversität bei den getesteten Verbindungen erreicht.

Sinnvoll kombiniert ergänzen sich diese unterschiedlichen Herangehensweisen, sodass die Entwicklungszyklen auf dem Weg zum Arzneistoff dadurch enorm beschleunigt werden können. Aus diesem Grund sollte vor jedem neuen Projektabschnitt entschieden werden, welcher methodische Ansatz für die Bewältigung der Problemstellung am besten geeignet ist.

4. SYNTHESE UND OPTIMIERUNG FRAGMENT-BASIERTER *VIRTUAL-SCREENING-HITS*

Wie in Kapitel 1 bereits ausgeführt bietet der Ansatz des *virtual screenings* die Möglichkeit, Bereiche des chemischen Raumes gegen eine Zielstruktur zu testen, ohne diesen Raum tatsächlich synthetisch erschlossen zu haben. Auf diesem Wege können Verbindungen mit neuartiger Struktur in die Untersuchungen eingeschlossen werden, deren Synthese nur im Falle eines vielversprechenden *docking*-Ergebnisses tatsächlich etabliert werden muss.

Bei dieser Technik stellt das Design der virtuellen Molekülbibliothek eine große Herausforderung dar, da aufgrund der Begrenzung physikalischer Rechenkapazität lediglich ein winziger Teil des chemischen Raumes abgebildet werden kann. Selbst nach Exklusion aller Verbindungen, welche aufgrund ihrer Größe/Struktur nicht für die Anwendung in biologischen Systemen geeignet sind, verbleibt eine nicht zu verarbeitende Anzahl an Molekülen, sodass eine weitere Eingrenzung unumgänglich ist^{111,148}. Die Zusammenstellung der Bibliothek ist ein kritischer Schritt, in den bereits verfügbare Informationen über das Bindungsverhalten des Zielproteins einfließen können. Jedoch muss eine übermäßige strukturelle Orientierung an bereits bekannten Liganden vermieden werden, um die Entdeckung neuartiger chemischer Bindemotive nicht zu unterdrücken.

Bereits an dieser Stelle sollte auch die potentielle Synthetisierbarkeit der Moleküle berücksichtigt werden. *Screening*-Kampagnen zielen auf die schnelle und effiziente Entdeckung potentieller Liganden ab, insofern ist ein möglichst geringer Zeitaufwand für die Etablierung geeigneter Syntheserouten wünschenswert. Durch Begrenzung der Molekülkomplexität wird sichergestellt, dass die in der Bibliothek vertretenen Verbindungen mit hoher Wahrscheinlichkeit auch tatsächlich synthetisierbar sind.

Das Ziel des Projektes war die Identifizierung neuartiger Bindemotive für die PIM1-Kinase sowie deren iterative Verbesserung im Zuge rationalen Wirkstoffdesigns. Dabei sollte der Fokus nicht nur auf einer hohen biologischen Aktivität liegen, sondern auch auf einer möglichst einfachen Durchführbarkeit der Synthese. Auf diese Weise konnten die Verbindungen besser als Ausgangspunkt für die systematische Verbesserung z. B. im Zuge einer SAR dienen.

Zu diesem Zweck wurden Ergebnisse eines *virtual screenings* auf die Durchführbarkeit ihrer jeweiligen Synthesen geprüft und geeignete Syntheserouten entwickelt, um eine biologische Testung der Kandidaten zu ermöglichen. Vielversprechende Verbindungen wurden röntgenkristallographisch untersucht (durchgeführt von PHIL HOCHBAN - AG DIEDERICH), um den Bindungsmodus zu bestimmen und eine rationale Weiterentwicklung der Moleküle zu ermöglichen. Zudem wurde die Möglichkeit einer Vereinfachung der Synthese durch geeignete Analoga evaluiert.

4.1 Entwicklung der zu synthetisierenden Strukturvorschläge

Das *virtual screening* als Ausgangspunkt des Projektes wurde von Dr. COREY TAYLOR (AG KOLB) durchgeführt¹⁴⁹. Zu diesem Zweck wurde eine Fragmentbibliothek mittels *docking* untersucht und Moleküle mit stabilem Bindungsmodus auf das Vorhandensein reaktiver Positionen für die Verknüpfung mit weiteren Bausteinen gefiltert. Diese Fragmente wurden mittels *Thermal Shift Assay* (TSA, durchgeführt von Dr. CHRISTOF SIEFKER, AG KLEBE) auf eine physikalische Bindung an das Protein getestet, angezeigt durch einen positiven *shift* der Schmelztemperatur im Vergleich zum nativen Protein (Abb. 4.1)¹³⁸.

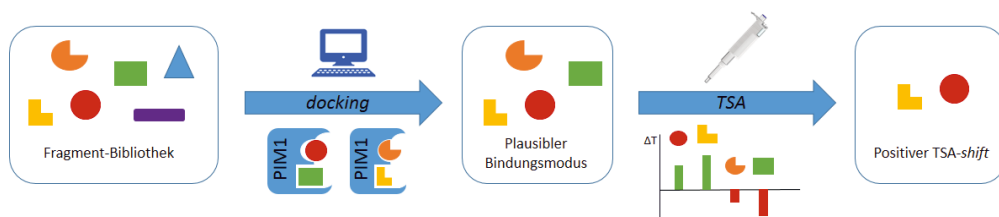


Abb. 4.1: Erste Schritte zur Generierung der virtuellen Molekülbibliothek. Fragmente mit plausiblen Bindungsmodus und positivem TSA-shift werden weiter prozessiert.

Schließlich wurden die verbliebenen Fragmentmoleküle *in silico* mit einer kommerziell verfügbaren Bausteinbibliothek (7805 Verbindungen, ChemBridge®) reagiert. Dieser Schritt erfolgte auch hier mit PINGUI, welches Bausteine auf Grundlage ihrer chemischen Struktur mittels 37 etablierter und robuster Reaktionen zu neuen Molekülen verknüpft (Abb. 4.2)¹³⁹.

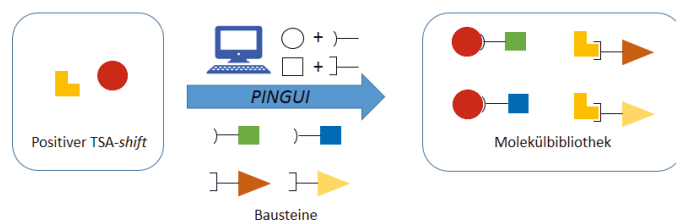


Abb. 4.2: Finale Erstellung der Molekülbibliothek mit PINGUI. Dieses verknüpft die zuvor herausgefilterten Fragmente auf Grundlage von 37 etablierten chemischen Reaktionen mit den jeweils passenden Bestandteilen einer Bausteinbibliothek.

Die erzeugten Moleküle wurden mittels *docking* auf das Vorhandensein plausibler Bindeposen überprüft und nach weiteren Auswahlsschritten eine Liste von 21 Verbindungen mit vielversprechendem Bindungsmodus zusammengestellt. Bei allen Molekülen wurde zudem die retrosynthetische Betrachtung der Verknüpfungsreaktion aus PINGUI angegeben, welche der jeweiligen Struktur zugrunde lag. Die Vorteile dieser Vorgehensweise lagen einerseits in der Verwendung bestätigter Fragment-hits, wodurch eine grundsätzliche Affinität der entsprechenden Molekülteile bereits im Design der Bibliothek verankert wurde. Andererseits konnte durch die automatisierte *in silico* Verknüpfung eine große Variabilität der entstehenden Moleküle sichergestellt werden. Die kommerzielle Verfügbarkeit der Fragmente und Bausteine sowie die Methoden-basierte Rückführbarkeit auf robuste chemische Reaktionen sollten ferner einen positiven Effekt auf die effiziente Synthetisierbarkeit der entsprechenden Verbindungen haben. Auf diese Weise wurden die eingangs erwähnten Anforderungen an das Design virtueller Molekülbibliotheken umfassend adressiert.

4.2 Synthese der Strukturvorschläge aus dem *virtual screening*

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die vorgeschlagenen Inhibitoren zunächst nach chemisch-synthetischen Gesichtspunkten bewertet. Moleküle, deren zentrale Verknüpfungsreaktion nicht plausibel erschien, wurden dabei aussortiert. Zudem wurden Verbindungen mit sehr kostenintensiven Ausgangsstoffen (> 200 €/g) verworfen, falls nicht für die Etablierung der Syntheseroute preisgünstigere Analoga verwendet werden konnten. Bei dem in **Abb. 4.3** gezeigten Vorschlag lagen die Beschaffungskosten des Alkohol-Bausteins **4.1** deutlich über 500 €/g, ohne dass ein geeignetes Analogon verfügbar war. Zudem musste im Vorfeld der Ethersynthese eine Schützung des sekundären Amins erfolgen, was einen weiteren Ausbeuteverlust bedeutet hätte. Schlussendlich war auch die Verknüpfungsreaktion selber aufgrund der sterischen Hinderung des Alkohols als wenig erfolgversprechend zu bewerten, daher wurde der gezeigte Vorschlag bei der Durchführung der Synthesen nicht berücksichtigt.

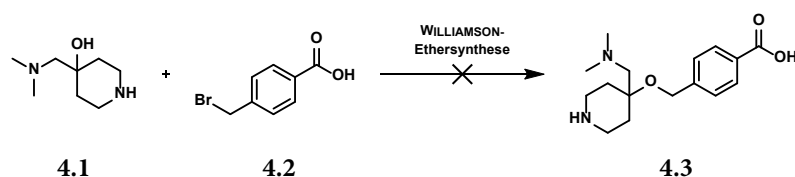


Abb. 4.3: Synthesevorschlag, welcher als nicht plausibel eingeschätzt und daher verworfen wurde.

Außerdem wurden für alle Synthesen passende Schutzgruppenstrategien entwickelt, um Nebenreaktionen zu verhindern und einen reibungslosen Ablauf der Schlüsselreaktion zu gewährleisten. In **Abb. 4.4** ist zu sehen, dass eine Abwandlung der vorgeschlagene Synthese von Verbindung **4.5** erfolgte, indem ein preisgünstigeres Analogon des Imidazol-Bausteins **4.6** (rot) verwendet wurde. Zudem wurde der Carbonsäure-Vorläufer **4.7** als Methylester (blau) eingesetzt, welcher in diesem Falle als Schutzgruppe fungierte, um Nebenreaktionen zu verhindern.

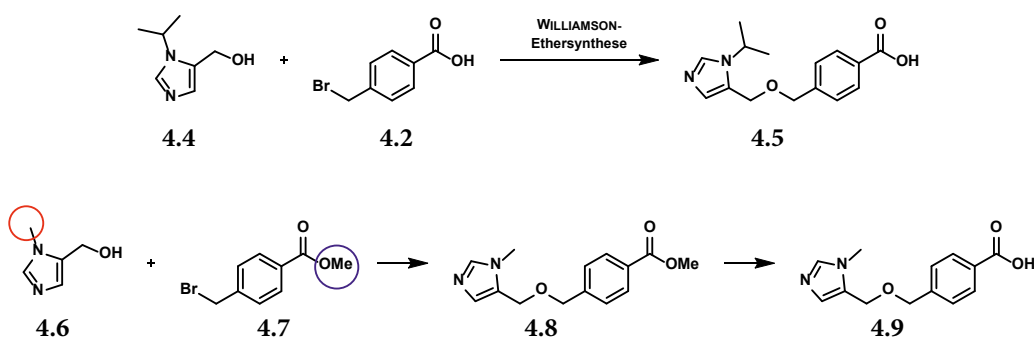


Abb. 4.4: Oben: Synthesevorschlag zur Herstellung eines der Zielmoleküle. **Unten:** Abwandlung des ursprünglichen Synthesevorschlags durch den Einsatz preisgünstigerer Analoga (rot) und die Implementierung einer Schutzgruppenstrategie (blau).

Weiterhin erfolgte ein Abgleich der vorhergesagten *docking*-Posen mit bereits bekannten Bindungsmotiven, um ggf. durch geeigneten Austausch kritischer Strukturelemente eine Vereinfachung der Synthese unter Erhaltung der vorhergesagten Wechselwirkungen zu erreichen (**Abb. 4.5**).

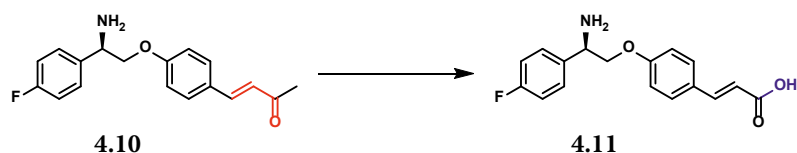


Abb. 4.5: Zur Verhinderung von Nebenreaktionen am Michael-Akzeptorsystem (rot) in **4.10** wurde dieses in eine Zimtsäurestruktur (**4.11**) überführt.

Ein Vergleich der *docking*-Pose mit der Kristallstruktur eines literaturbekannten Zimtsäure-Inhibitors bestätigte im Falle von Verbindung **4.10** die ähnliche Positionierung des Ketons und der Carboxylgruppen (**Abb. 4.6**). Entsprechend sollte die geplante Modifikation der Struktur keinen nachteiligen Einfluss auf die wichtige Interaktion mit K67 haben, welche dem *docking*-Ergebnis zugrunde lag.

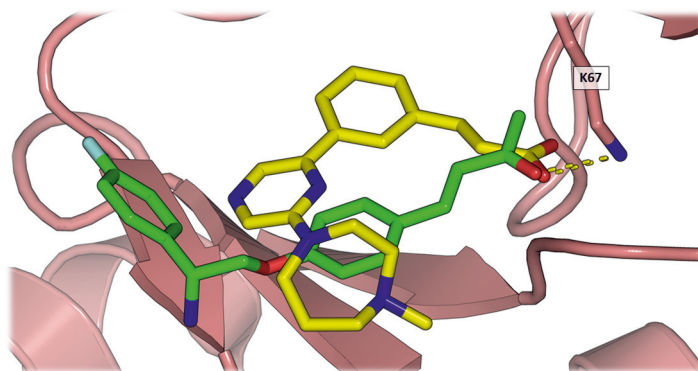


Abb. 4.6: Vergleich der Positionierung von Verbindung **4.10** (grün) mit einem literaturbekannten PIM1-Inhibitor mit Zimtsäurestruktur (gelb, PDB-Code: 2XJ2¹²¹).

Insgesamt wurden nach diesem Auswahlprozess für insgesamt 7 unterschiedliche Strukturvorschläge aus den *docking*-Versuchen die Verbindung oder entsprechende Analoga synthetisiert (**Abb. 4.7**). Im Folgenden werden die Einzelsynthesen der jeweiligen Verbindungsklassen beschrieben.

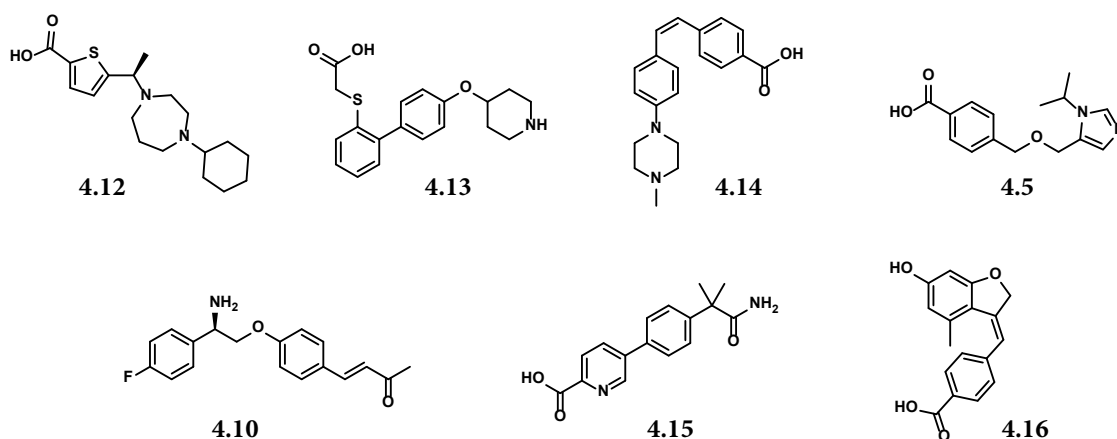
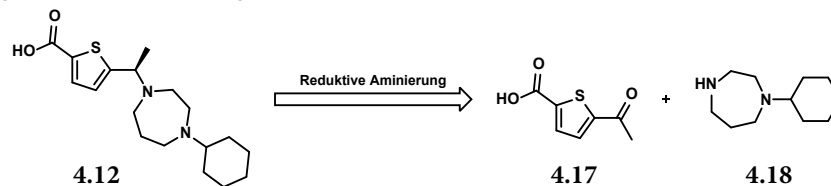


Abb. 4.7: Für die gezeigten Strukturvorschläge und/oder etwaige Analoga wurde eine Syntheseroute etabliert.

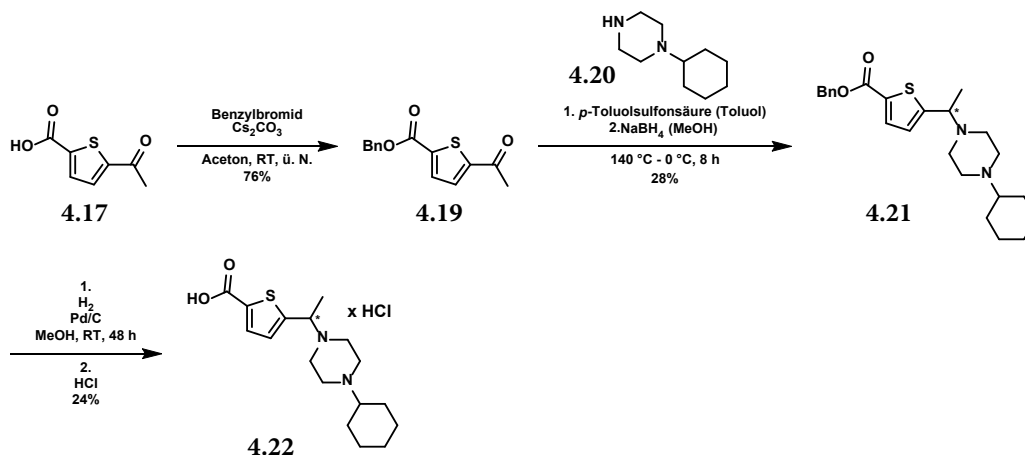
4.2.1 Verbindung 4.12

Für die Synthese von Verbindung **4.12** sollte eine reduktive Aminierung als Schlüsselschritt zur Verknüpfung der zwei Bausteine genutzt werden (**Schema 4.1**).



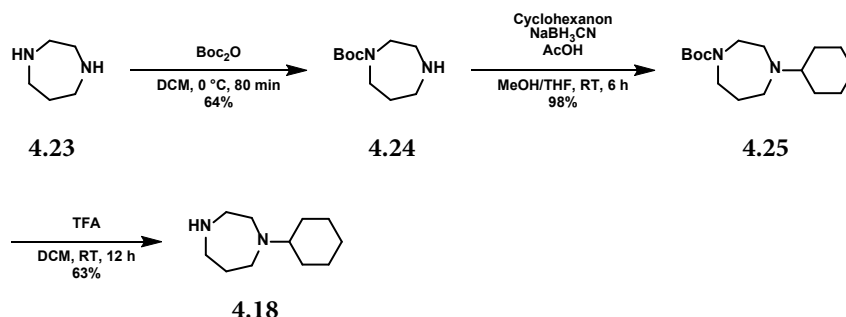
Schema 4.1: Reduktive Aminierung als Schlüsselschritt zur Synthese der Verbindung **4.12**.

Dabei wurde die Synthese zunächst mit einem preisgünstigeren Piperazin-Derivat etabliert, erst danach wurde das aufwendig zu synthetisierende Cyclohexylhomopiperazin (**4.18**) verwendet. Zudem sollte zunächst ein racemisches Gemisch synthetisiert werden und erst bei Bestätigung einer vielversprechenden Aktivität eine Isolierung der einzelnen Enantiomere angestrebt werden. Aufgrund der hohen Elektronendichte des Thiophenderivates **4.17** war von einer niedrigen Reaktivität des Ketons auszugehen. Daher wurde die Carbonsäure als Benzylester geschützt, um eine weitere Deaktivierung des Keton-Carbonyls durch Deprotonierung dieser zu verhindern (**Schema 4.2**). Die reduktive Aminierung wurde als zweistufiger Prozess durchgeführt, bei dem sich zunächst unter Einsatz eines Wasserabscheiders das entsprechende Imin bildete, welches anschließend mit NaBH_4 reduziert wurde¹⁵⁰. Zuletzt erfolgte die Abspaltung der Benzylgruppe durch hydrogenolytische Spaltung an Pd/C mit anschließender Überführung in das Hydrochlorid, sodass schließlich Verbindung **4.22** in einer Gesamtausbeute von 5% über drei Stufen erhalten wurde.



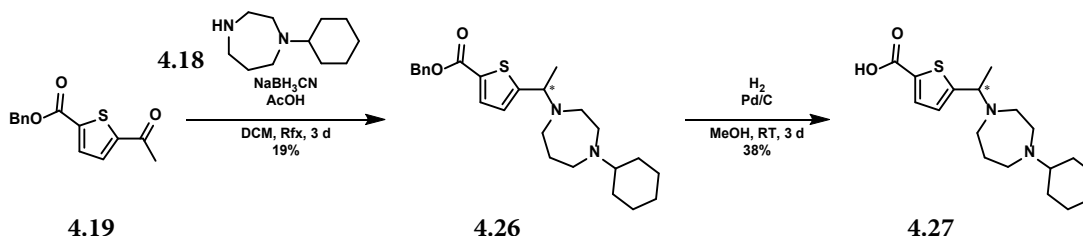
Schema 4.2: Syntheseroute für Cyclohexylpiperazin-Derivat **4.22**. Die geschützte Carbonsäure **4.19** wurde in einer reduktiven Aminierung mit Piperazin-Derivat **4.20** zu **4.21** umgesetzt, die anschließende hydrogenolytische Abspaltung der Schutzgruppe ergab das Endprodukt, welches als Hydrochlorid gewonnen wurde.

Zum Zweck der Synthese von Verbindung **4.12** wurde als erstes Cyclohexylhomopiperazin (**4.18**) synthetisiert (**Schema 4.3**). Dafür wurde zunächst ein Stickstoff von Homopiperazin Boc-geschützt (**4.24**), anschließend erfolgte am ungeschützten Stickstoff eine reduktive Aminierung mit Cyclohexanon zu **4.25**¹⁵¹. Nach Entfernung der Boc-Schutzgruppe mittels TFA wurde das entstandene Produkt **4.18** in einer weiteren reduktiven Aminierung mit dem Benzylester **4.19** umgesetzt.



Schema 4.3: Synthese des Homopiperazin-Bausteins **4.18**¹⁵¹.

Im Falle des Homopiperazin-Bausteins musste jedoch eine neue Vorschrift entwickelt werden, da nach den ursprünglich etablierten Bedingungen kein Produkt erhalten werden konnte. Dies war vermutlich auf den erhöhten sterischen Anspruch des 7-Ringes und eine dadurch reduzierte Nukleophilie des Stickstoffs zurückzuführen. Erst der Einsatz von NaBH_3CN in refluxierendem DCM mit sehr langer Reaktionszeit führte zur Bildung des gewünschten Produktes **4.26**, wenn auch in geringen Ausbeuten (**Schema 4.4**). Nach hydrogenolytischer Spaltung des Benzylesters wurde schließlich das racemische Produkt **4.27** in einer Gesamtausbeute von 5% über drei Stufen erhalten.

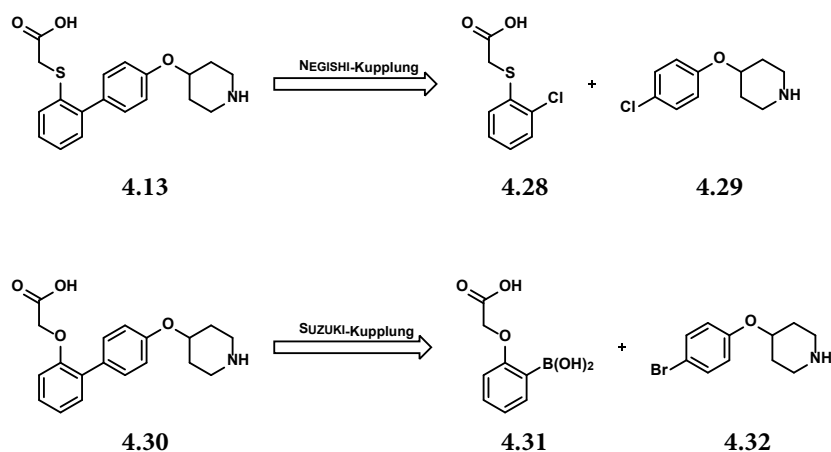


Schema 4.4: Synthese der racemischen Verbindung **4.27** ausgehend von Benzylester **4.19** und Cyclohexylhomopiperazin. Die reduktive Aminierung am Keton war erst nach Optimierung der Reaktionsbedingungen erfolgreich.

4.2.2 Verbindung 4.13

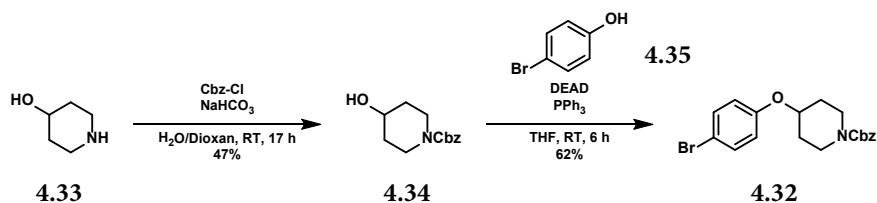
Für die Synthese der Verbindung **4.13** wurde eine NEGISHI-Kupplung vorgeschlagen^{152,153}. Bei dieser Kreuzkupplungsreaktion werden Zinkorganyle und Arylhalogenide mithilfe eines Ni- oder Pd-Katalysators unter Bildung einer C-C-Bindung verknüpft.

Um die aufwendige Herstellung der Organozinkverbindungen über entsprechende Lithiumorganyle zu umgehen, wurde stattdessen mit Hinblick auf das Ziel einer möglichst schnellen und einfachen Synthese die SUZUKI-Kupplung als zentrale Verknüpfungsreaktion gewählt (**Schema 4.5**). Diese erlaubt die Pd-vermittelte Kupplung von Arylhalogeniden mit Arylboronsäuren, zwei Strukturklassen für die eine reichhaltige Auswahl an Derivaten kommerziell verfügbar ist, sodass problemlos passende Ausgangsstoffe für die Etablierung einer Synthese erworben werden konnten^{154,155}. Zudem wurde aufgrund der höheren Oxidationsempfindlichkeit von Thioethern im Vergleich zu den analogen Sauerstoff-Verbindungen sowie der etwas stärkeren Toxizität von Thiophenolen verglichen mit Phenolen das Schwefelatom gegen ein Sauerstoffatom ausgetauscht. Eine schwerwiegende Änderung der Bindungs- und Molekülgeometrie war dadurch nicht zu erwarten, da beide Elemente zur selben Hauptgruppe im Periodensystem gehören.



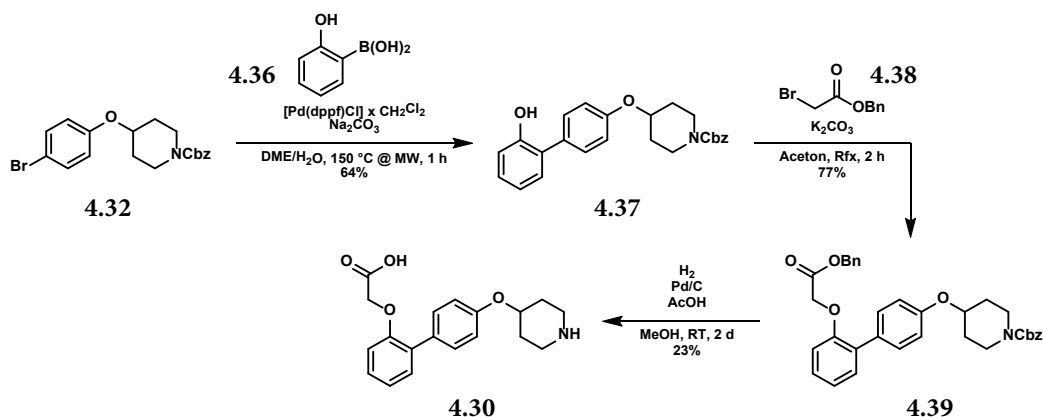
Schema 4.5: Oben: Ursprünglich vorgesehene Verknüpfung mittels NEGISHI-Kupplung. Vor der Kupplung muss eines der Arylchloride zunächst lithiiert und anschließend in die Organozink-Verbindung überführt werden. **Unten:** Alternativ gewählte Verknüpfung mithilfe einer SUZUKI-Kupplung und Austausch des Thiophenoethers gegen einen Phenoether zu **4.30**.

Weil sowohl das sekundäre Amin als auch die Carbonsäure zur Verhinderung von Nebenreaktionen geschützt werden mussten, sollte eine Schutzgruppenstrategie gewählt werden, welche die gleichzeitige Entschützung beider Funktionen in einem Reaktionsschritt am Ende der Synthesesequenz erlaubte. Aus diesem Grund wurde für das Amin eine Cbz-Schutzgruppe und für die Carbonsäure eine Schützung als Benzylester gewählt, da beide Gruppen hydrogenolytisch mit H_2 und Pd/C gespalten werden. Die Synthese startete mit der Cbz-Schützung von 4-Hydroxypiperidin (**4.33**), danach folgte eine MITSUNOBU-Reaktion mit 4-Bromphenol (**4.35**) (**Schema 4.6**).



Schema 4.6: Synthese des Arylbromidbausteins **4.32** aus 4-Hydroxypiperidin (**4.33**). Zunächst erfolgte eine Cbz-Schutzung des Amins zu **4.34**, anschließend wurde in einer MITSUNOBU-Reaktion mit **4.35** der Phenoether gebildet.

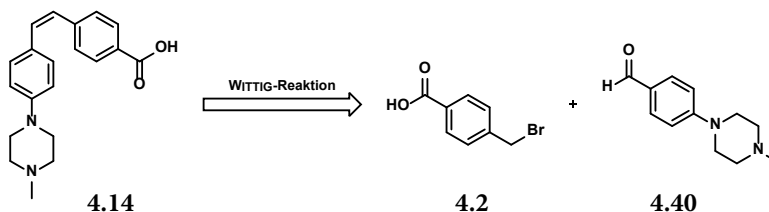
Das resultierende Arylhalogenid **4.32** wurde mittels einer SUZUKI-Kupplung in der Mikrowelle mit der 2-Hydroxyarylboronsäure (**4.36**) verknüpft und anschließend durch nukleophile Substitution mit 2-Bromessigsäurebenzylester (**4.38**) zu Verbindung **4.39** umgesetzt (Schema 4.7)^{141,156}. Im letzten Syntheseschritt erfolgte die synchrone Abspaltung der Benzyl- und Cbz-Schutzgruppe zur Zielverbindung **4.30**, welche in einer Gesamtausbeute von 3% über 5 Stufen dargestellt werden konnte. Die finale Entschützung hatte dabei mit einer Ausbeute von 23% erheblichen Anteil an der niedrigen Gesamtausbeute. Weil jedoch zunächst die Gewinnung einer Probe für die biologische Evaluation im Vordergrund stand, wurde an dieser Stelle von einer systematischen Optimierung der Reaktion abgesehen.



Schema 4.7: Die SUZUKI-Kupplung von Verbindung **4.32** mit der 2-Hydroxyarylboronsäure **4.36** führte zu Phenol **4.37**, welches durch Umsetzung mit 2-Bromessigsäurebenzylester Verbindung **4.39** ergab^{141,156}. Die gleichzeitige Abspaltung der Cbz- und Benzylschutzgruppe mithilfe von H₂ und Pd/C lieferte Zielverbindung **4.30**.

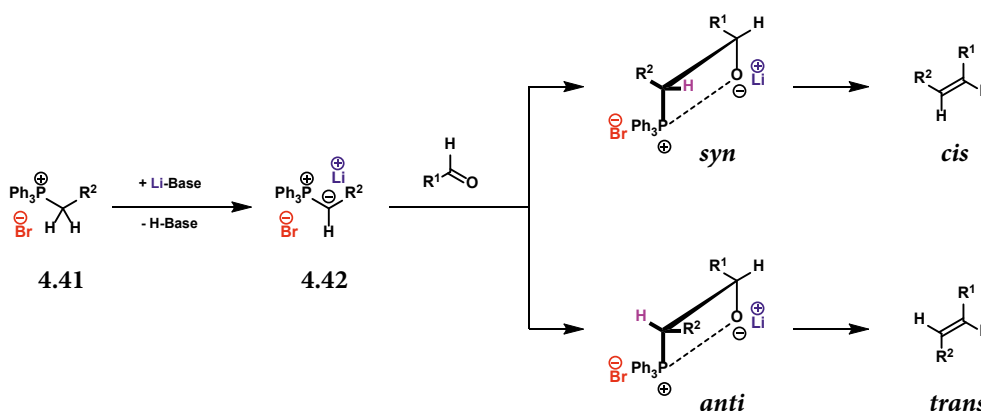
4.2.3 Verbindung 4.14

Als Schlüsselschritt für die Synthese von Verbindung **4.14** sollte eine WITTIG-Reaktion dienen (**Schema 4.8**). Diese Reaktion erlaubt die Bildung von C-C-Verknüpfungen unter Ausbildung einer Doppelbindung (DB).



Schema 4.8: WITTIG-Reaktion als zentrale Verknüpfung zur Synthese von Verbindung **4.14**.

Wie in **Schema 4.9** gezeigt wird für die Reaktion ein WITTIG-Salz (**4.41**) mittels einer geeigneten Base zum Ylid/Ylen (**4.42**) deprotoniert und anschließend mit einem Aldehyd oder Keton umgesetzt. Nach Abspaltung von Triphenylphosphinoxid kommt es zur Ausbildung der Doppelbindung, welche mechanismusbedingt eine *cis*- oder *trans*-Konfiguration aufweisen kann.



Schema 4.9: Mechanismus der WITTIG-Reaktion. Das WITTIG-Salz **4.41** wird mit einer Base zum Ylid/Ylen **4.42** deprotoniert. Dieses greift als Kohlenstoffnukleophil am Carbonyl des Aldehyds/Ketons an, wobei die sterische Abstoßung zwischen R^2 und der PPh_3 -Gruppe Einfluss auf die jeweilige Bildungswahrscheinlichkeit von *syn*- und *anti*-Übergangszustand nimmt. Bei niedrigen Temperaturen sorgt dieser Effekt für eine bevorzugte Bildung des *cis*-Produktes, während bei höheren Temperaturen vermehrt das thermodynamisch stabilere *trans*-Produkt gebildet wird.

Die *docking*-Lösung von Verbindung **4.14** bezog sich explizit auf das *cis*-Isomer, daher sollte im Zuge der Synthese ein isomerenreines Produkt oder eine Anreicherung dieses Isomers erzielt werden (**Abb. 4.8**).

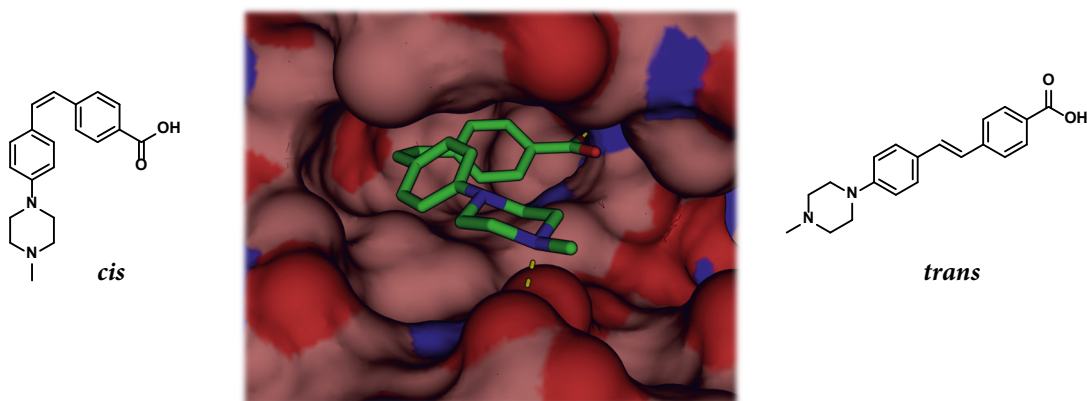
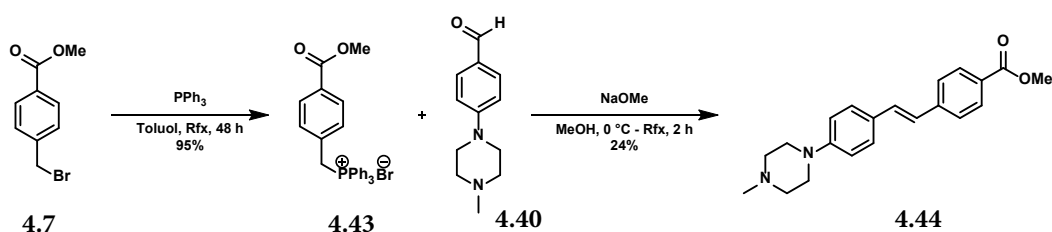


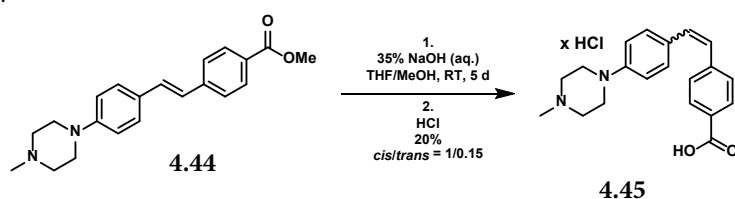
Abb. 4.8: Dockinglösung von Verbindung **4.14**. Ausschließlich das *cis*-Isomer nimmt die vorgeschlagene Bindungsposition ein.

Um eine Deprotonierung der Carbonsäure im Zuge der Reaktion zu verhindern wurde zuerst WITTIG-Salz **4.43** durch Reaktion von Benzoessäureester **4.7** mit Triphenylphosphin hergestellt, anschließend wurde dieses in einer WITTIG-Reaktion mit dem Aldehyd **4.40** umgesetzt (**Schema 4.10**)^{157,158}.



Schema 4.10: Herstellung des WITTIG-Salz **4.43** und anschließende WITTIG-Reaktion mit Aldehyd **4.40** zu Stilben **4.44**. Das gewonnene Produkt wies ausschließlich die *trans*-Konfiguration auf^{157,158}.

Die niedrige Ausbeute der Reaktion ist der Tatsache geschuldet, dass lediglich präzipitiertes Produkt aus der Reaktion gewonnen wurde, welches ausschließlich *trans*-konfiguriert vorlag. Dies konnte anhand des ¹H-NMR-Spektrums nachgewiesen werden, da die Protonen an der Doppelbindung im Falle der *trans*-Konfiguration typischerweise eine Kopplungskonstante von 15-16 Hz aufweisen, bei der *cis*-Konfiguration hingegen 12-13 Hz¹⁵⁹. Im letzten Schritt wurde der Methylester des zuvor erhaltenen *trans*-Stilbens **4.44** in einer Verseifungsreaktion gespalten (**Schema 4.11**). Das Produkt dieser Reaktion wies jedoch eine sehr schlechte Löslichkeit in DMSO auf und wurde deshalb in das entsprechende Hydrochlorid überführt.



Schema 4.11: Verseifung des Methylesters **4.44**. Im Zuge von Esterspaltung und Überführung in das Hydrochlorid **4.45** zur Verbesserung der Löslichkeit isomerisierte ein großer Teil des Produktes.

Während dieser zwei Reaktionsschritte fand zudem eine überwiegende Isomerisierung der Doppelbindung statt, sodass am Ende ein *cis*-/*trans*-Gemisch im Verhältnis 1/0.15 mit einer Gesamtausbeute von 5% über drei Stufen erhalten wurde. Die Bestimmung des Isomerenverhältnisses erfolgte anhand des ¹H-NMR-Spektrums (**Abb. 4.9**).

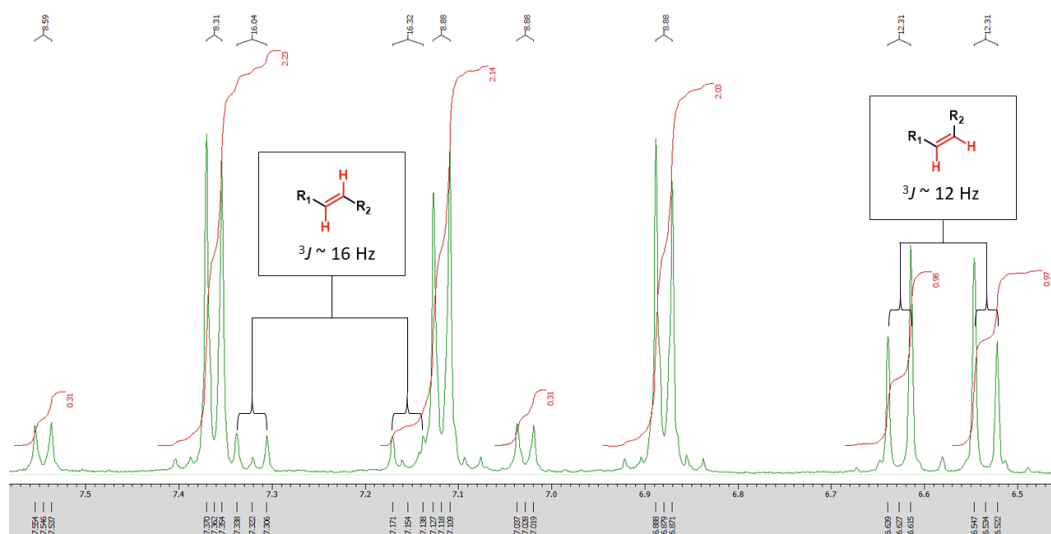
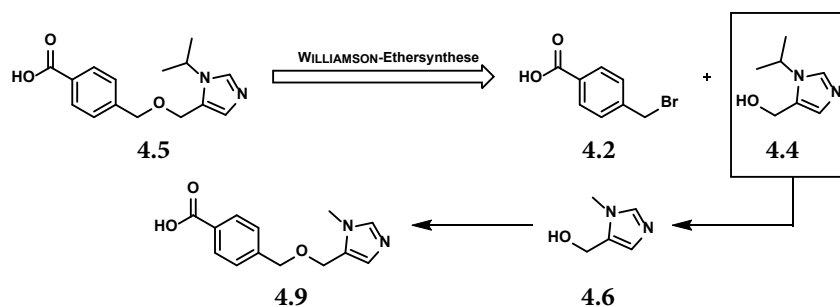


Abb. 4.9: Ausschnitt aus dem ^1H -NMR-Spektrum der Verbindung **4.45**. Anhand der Kopplungskonstante der DB-ständigen Protonen lassen sich die Signalsätze den jeweiligen Isomeren zuordnen. Durch Vergleich der Integrale zugehöriger Aromaten ($2.03/0.31 = 1/0.15$) kann das Isomerenverhältnis *cis/trans* auf 1/0.15 bestimmt werden.

Die Salzbildung konnte die Löslichkeit der Verbindung leider nur geringfügig verbessern, was ein erhebliches Hindernis für die Anwendung in biologischen Testsystemen darstellte. Aufgrund dieser Eigenschaft wurde diese Verbindung nicht in die biologische Testung eingeschlossen und an dieser Stelle nicht weiterverfolgt.

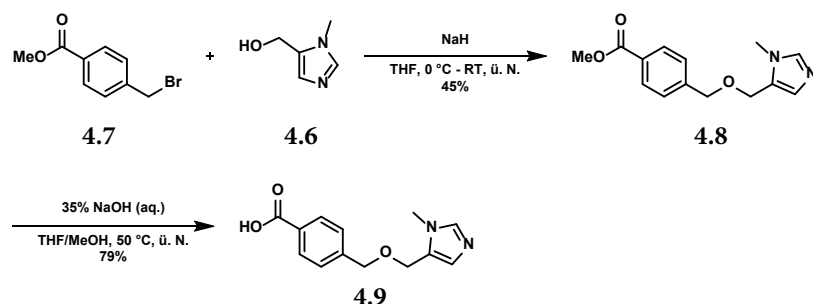
4.2.4 Verbindung 4.5

Als Schlüsselschritt zur Synthese von Verbindung **4.5** wurde eine WILLIAMSON-Ethersynthese vorgeschlagen (**Schema 4.12**). Da jedoch der Imidazolbaustein sehr teuer (> 300 €/g) war, wurde die Synthese zunächst mit einem deutlich preisgünstigeren Edukt etabliert, welcher sich lediglich im Alkylsubstituenten von der ursprünglichen Verbindung unterschied.



Schema 4.12: Retrosynthetische Betrachtung von Verbindung **4.5**. Aufgrund des hohen Preises von Imidazol **4.4** wurde ein preisgünstigeres Analogon (**4.6**) gewählt, damit ergab sich die Zielverbindung **4.9**.

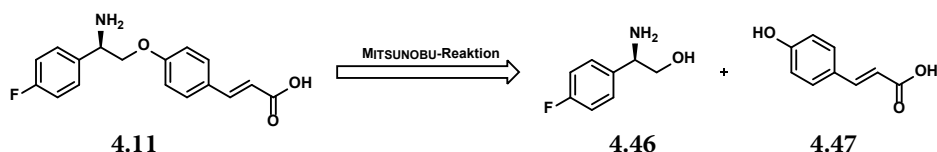
Um eine Protonierung des Alkoholat-Nukleophils im Zuge der Reaktion zu verhindern, wurde der Carbonsäure-Baustein als Methylester **4.7** eingesetzt. Die anschließende Verseifung ergab Verbindung **4.9** in einer Gesamtausbeute von 36% über zwei Stufen (**Schema 4.13**).



Schema 4.13: Der erste Schritt der Synthese war eine Etherbildung zwischen Alkylbromid **4.7** und Alkohol **4.6** zu Verbindung **4.8**. Nach Spaltung des Esters wurde die Zielverbindung **4.9** erhalten.

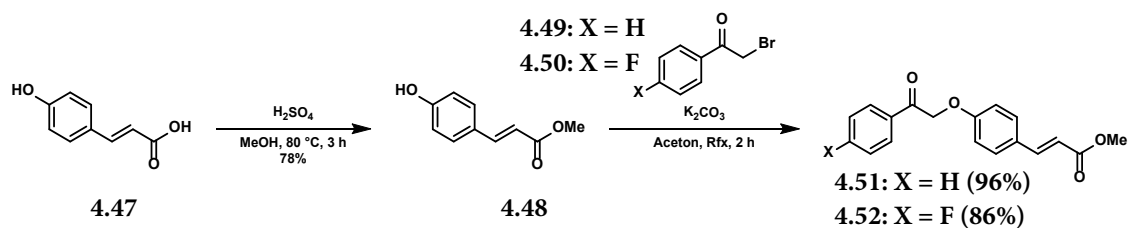
4.2.5 Verbindung 4.10

Wie bereits am Anfang des Kapitels ausgeführt, wurde der ursprüngliche Strukturvorschlag **4.10** aufgrund des Vorhandenseins eines Michael-Akzeptorsystems in das entsprechende Zimtsäurederivat **4.11** abgewandelt. Von SCUBIDOO war für die Darstellung von **4.10** eine Synthese mittels MITSUNOBU-Reaktion vorgeschlagen worden, welche auf **4.11** übertragen wurde (**Schema 4.14**).



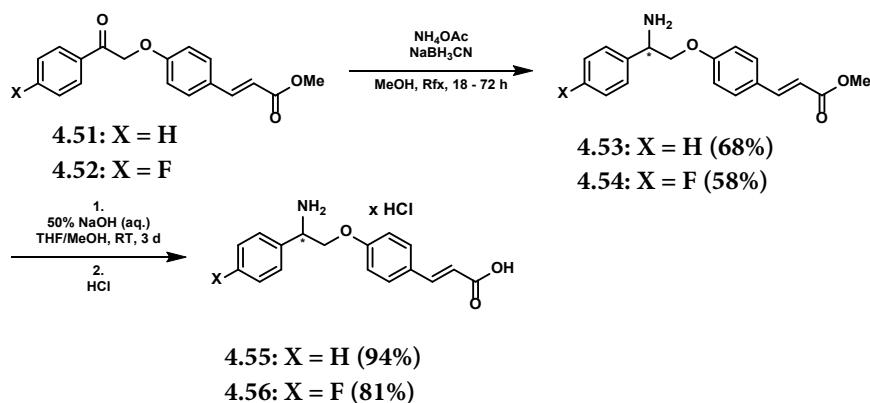
Schema 4.14: Analoge Synthese des modifizierten Strukturvorschlags **4.11** mittels MITSUNOBU-Reaktion. Anstatt des ursprünglichen Vorläufers sollte Zimtsäure **4.47** als Ausgangssubstanz verwendet werden.

Trotz der erläuterten Änderung des ursprünglichen Strukturvorschlags zur Verbesserung der Stabilität wäre diese Schlüsselreaktion prinzipiell durchführbar gewesen. Allerdings wurde aufgrund des hohen Preises des dafür benötigten Alkohols **4.46** (> 300 €/g) entschieden, eine Syntheseroute für das racemische Gemisch mit günstigeren Ausgangsstoffen zu etablieren. Dafür wurde zunächst *p*-Cumarsäure (**4.47**) in den Methylester **4.48** überführt, anschließend erfolgte eine nukleophile Substitution mit einem entsprechenden 2-Bromacetophenon (**Schema 4.15**)¹⁵⁶. An dieser Stelle wurde für die weitere Etablierung der Syntheseroute zunächst das unsubstituierte 2-Bromacetophenon (**4.49**) verwendet, nach erfolgreicher Etablierung einer Gesamtsynthese wurde diese anschließend auch mit 2-Brom-4'-fluoroacetophenon (**4.50**) durchgeführt.



Schema 4.15: Alternative Syntheseroute für das Racemat von Verbindung **4.11**. Im ersten Schritt erfolgt die Veresterung von *p*-Cumarsäure und anschließend die Hauptverknüpfung als Substitution an ein entsprechendes 2-Bromacetophenon-Derivat.

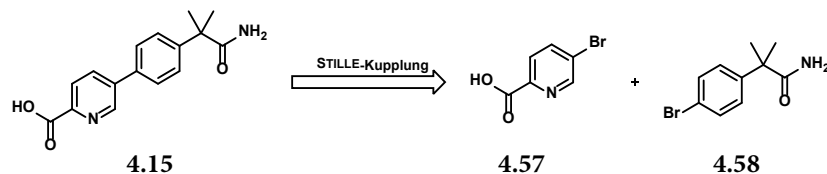
Im nächsten Schritt wurde das Keton mittels reduktiver Aminierung mit Amoniak in das entsprechende Amin überführt (**Schema 4.16**)¹⁶⁰. Dabei diente NH_4OAc *in situ* als NH_3 -Quelle und NaBH_3CN als Reduktionsmittel, um eine direkte Reduktion des Carbonyls zum Alkohol zu vermeiden. Entscheidend war zudem, das hygroskopische NH_4OAc vor Verwendung im Hochvakuum unter erhöhter Temperatur möglichst gründlich zu trocknen. Anschließend wurde der Methylester wieder gespalten und das Produkt in das jeweilige Hydrochlorid überführt. Dabei wurden die beiden Endverbindungen als Racemate in Gesamtausbeuten von 48% (**4.55**) bzw. 32% (**4.56**) über vier Stufen erhalten. Die racemischen Mischungen sollten zunächst auf ihre biologische Aktivität untersucht und bei Vorliegen einer vielversprechenden Hemmwirkung eine Trennung der Enantiomere angestrebt werden, um diese einzeln vermessen zu können.



Schema 4.16: Entscheidender Reaktionsschritt der Sequenz war die Installation der NH_2 -Gruppe durch reduktive Aminierung des Ketons. Durch anschließende Spaltung des Esters wurden die racemischen Endprodukte **4.55** und **4.56** erhalten.

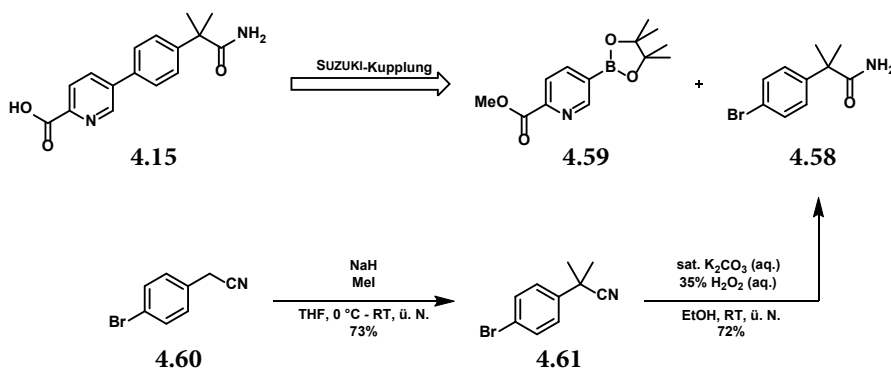
4.2.6 Verbindung 4.15

Im Falle von Verbindung **4.15** war eine STILLE-Kupplung als zentrale Verknüpfungsreaktion vorgesehen (**Schema 4.17**). Diese Kreuzkupplung erlaubt die Pd-katalysierte Bildung von C-C-Bindungen zwischen Organostannanen und sp^2 -hybridisierten Organohalogeniden^{161,162}. Es wurde eine Synthese ausgehend von zwei Arylhalogeniden vorgeschlagen, wovon eines im Vorfeld der eigentlichen Kupplung mittels einer geeigneten Metallierungs-Reaktion in das entsprechende Organostannan überführt werden musste¹⁶³.



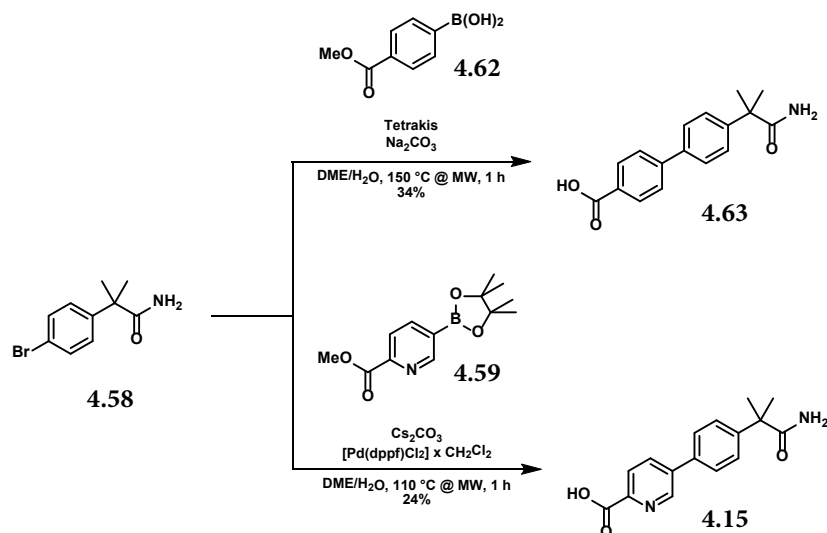
Schema 4.17: STILLE-Kupplung als Synthesevorschlag zur Verknüpfung der beiden Aromaten.

Aufgrund der hohen Toxizität von Organozinnverbindungen wurde jedoch stattdessen eine SUZUKI-Kupplung als Schlüsselreaktion etabliert (**Schema 4.18**). Die beiden erforderlichen Edukte konnten kommerziell erworben werden, Arylhalogenid **4.58** war jedoch sehr teuer (> 400 €/g) und wurde daher in zwei Schritten synthetisiert. Zu diesem Zweck wurde Verbindung **4.60** zunächst an der CH_2 -Position zweifach methyliert, anschließend erfolgte eine teilweise Hydrolyse des Nitrils **4.61** zum terminalen Amid **4.58**.



Schema 4.18: Oben: Alternative Retrosynthese mit Suzuki-Kupplung als Schlüsselreaktion. **Unten:** Baustein **4.58** wurde aufgrund des hohen Preises über zwei Schritte synthetisiert.

Die SUZUKI-Kupplung wurde schließlich in der Mikrowelle durchgeführt (**Schema 4.19**). Zur Etablierung geeigneter Reaktionsbedingungen diente 4-Methoxycarbonylphenylboronsäure (**4.62**). Aufgrund der Reaktionsbedingungen (wässrig, basisch, $T = 150\text{ }^{\circ}\text{C}$) erfolgte gleichzeitig die Spaltung des Methylesters, sodass direkt die Zielverbindung **4.63** in einer niedrigen Ausbeute (34%) erhalten wurde. Angesichts der Möglichkeit, dass auch das terminale Amid unter diesen Bedingungen hydrolysiert werden könnte, wurden für die Kupplung des Picolinsäure-Derivates **4.59** mildere Reaktionsbedingungen ($T = 110\text{ }^{\circ}\text{C}$) gewählt, doch dadurch konnte keine Verbesserung der Ausbeute erreicht werden.

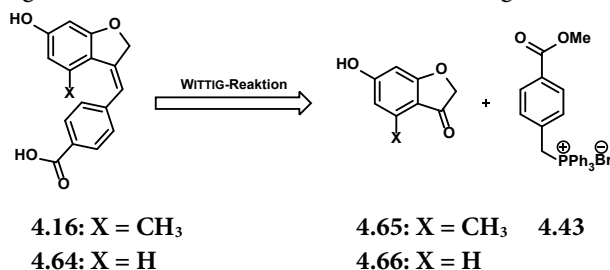


Schema 4.19: Synthese der Verbindungen **4.63** und **4.15** mithilfe der SUZUKI-Reaktion.

Insgesamt konnten die Zielverbindungen in Gesamtausbeuten von 18% (**4.63**) und 13% (**4.15**) erhalten werden. Derivat **4.63** war jedoch schlecht löslich in DMSO und wurde daher für die biologische Testung verworfen.

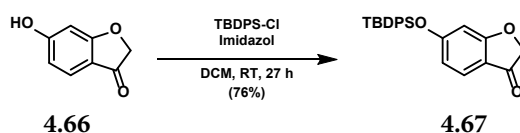
4.2.7 Verbindung 4.16

Der Strukturvorschlag **4.16** wurde auf eine WITTIG-Reaktion zurückgeführt. Für diese sollten das bereits aus der Synthese von Verbindung **4.14** bekannte WITTIG-Salz **4.43** und das Dihydrobenzofuran-Derivat **4.65** verwendet werden (**Schema 4.20**). Aufgrund des hohen Preises von **4.65** wurde entschieden, für die Etablierung geeigneter Reaktionsbedingungen zunächst das unmethylierte Analogon **4.66** zu verwenden, und erst danach eine Synthese des Originalmoleküls anzustreben. Dadurch ergab sich **4.64** als zusätzliche Zielverbindung.



Schema 4.20: WITTIG-Reaktion als Synthesevorschlag für die Verbindungen **4.16** und **4.64**.

Um die zentrale Verknüpfung zu ermöglichen war es notwendig, eine geeignete Schutzgruppe für die Phenol-Funktion zu finden. Diese sollte unter den Bedingungen der WITTIG-Reaktion (basisch, $T = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$) stabil sein, sich im Anschluss aber ohne Beschädigung der neu gebildeten Doppelbindung abspalten lassen. Die Verwendung von Carbonyl-haltigen Schutzgruppen (z. B. Acetyl, Benzoyl) wurde verworfen, da eine Spaltung durch Kleinstmengen an Wasser selbst bei Durchführung der Reaktion unter Schutzgasbedingungen zu befürchten war. Auch die Benzyl-Gruppe wurde zunächst ausgeschlossen, weil im Zuge der hydrogenolytischen Spaltung eine Reduktion der neu formierten Doppelbindung erwartet wurde. Aus diesen Gründen wurde die Eignung unterschiedlicher Silyl-Ether als Schutzgruppe untersucht. Bei *tert*-Butyl-Dimethyl-Silyl (TBDMS) war eine Spaltung des Ethers unter den Bedingungen der WITTIG-Reaktion zu beobachten, *tert*-Butyl-Diphenyl-Silyl (TBDPS) stellte sich jedoch als ausreichend stabil heraus. Das Produkt der Schützungs-Reaktion konnte nicht vollständig vom verwendeten Reagenz TBDPS-Cl abgetrennt werden und wurde daher leicht verunreinigt im nächsten Schritt eingesetzt (**Schema 4.21**).



Schema 4.21: Schützungs-Reaktion von **4.66** mit TBDPS-Cl¹⁶⁴.

Für die WITTIG-Reaktion wurde zur Auswahl geeigneter Reaktionsbedingungen anhand des postulierten Bindungsmodus die erforderliche Konfiguration der neu gebildeten Doppelbindung ermittelt. Nur das *E*-Produkt konnte die vorhergesagte Bindungspose einnehmen (**Abb. 4.10**).

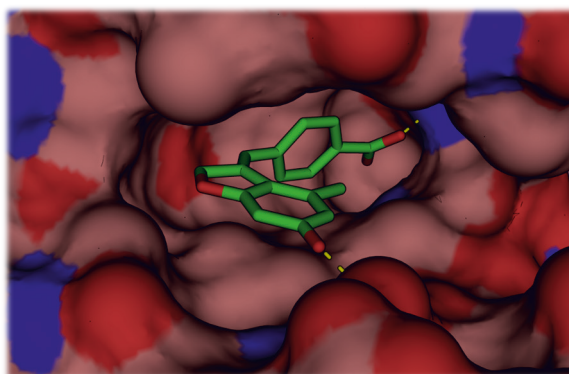
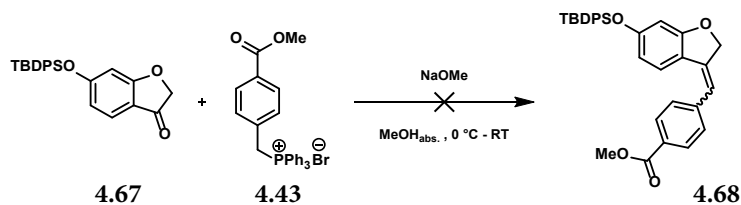


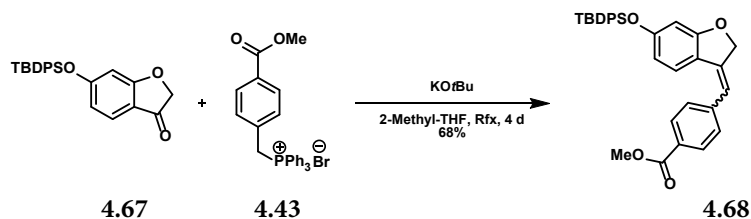
Abb. 4.10: Postulierter Bindungsmodus von Verbindung **4.16**. Die gedockte Verbindung weist eine *E*-konfigurierte Doppelbindung auf.

Da die Bildung dieses Isomers eher bei kinetischer Reaktionskontrolle zu erwarten war, wurde die Reaktion zunächst bei $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis RT durchgeführt. Unter diesen Bedingungen konnte allerdings keine Bildung des Produktes **4.68** beobachtet werden (**Schema 4.22**).



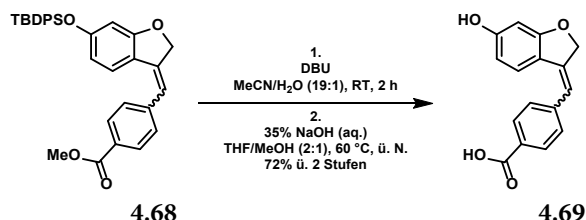
Schema 4.22: Mit den Reaktionsbedingungen aus Kapitel 4.2.3 war bei niedrigen Temperaturen keine Bildung des Produktes zu beobachten¹⁵⁷.

Sowohl die sterisch herausfordernde Umgebung des Fünfrings, als auch der +M-Effekt der beiden Sauerstoffatome am Aromaten wirkten sich offenbar nachteilig auf die Reaktivität des Ketons von **4.67** aus, sodass höhere Temperaturen notwendig waren. Zusätzlich sollte mit dem Austausch von NaOMe gegen KOtBu als Base die Nukleophilie des Alkoholates reduziert werden, um eine Addition an das Keton zu unterdrücken. Mit THF als Lösungsmittel und 4 Tagen Reaktionszeit konnte so erstmals Produktbildung beobachtet werden, jedoch nur in sehr niedrigen Ausbeuten (< 10%)¹⁶⁵. Durch Verwendung von 2-Methyl-THF wurde die Reaktionstemperatur bei Reflux von 66 °C auf 80 °C gesteigert, unter diesen Bedingungen konnten schließlich Ausbeuten von bis zu 68% erreicht werden (**Schema 4.23**).



Schema 4.23: Final etablierte Bedingungen für die Durchführung der WITTIG-Reaktion. Die ursprüngliche Strukturannahme für das Produkt musste jedoch im Zuge der analytischen Charakterisierung revidiert werden, was im folgenden Unterkapitel näher erläutert wird.

Als nächstes erfolgten eine Abspaltung der TBDPS-Gruppe mit DBU und eine Verseifung des Methylesters¹⁶⁶. Die anschließende Extraktion des Endproduktes mit organischem Lösungsmittel stellte dabei zunächst ein großes Problem dar, weil sich das Produkt in den beiden gängigen Extraktionsmitteln EtOAc und DCM nur schlecht löste. Erst die Verwendung von Et₂O ermöglichte eine vollständige Extraktion des Produktes aus der wässrigen Phase, daher wurde dieser auch als Bestandteil des Fließmittels in der finalen säulenchromatographischen Aufreinigung eingesetzt. Das Produkt wurde dabei in einer Gesamtausbeute von 37% gewonnen (**Schema 4.24**).



Schema 4.24: Zweistufige Entschützung zum finalen Produkt **4.69**: Zuerst wird der Silyl-Ether mit DBU gespalten, dann erfolgt eine Verseifung des Esters unter basischen Bedingungen.

4.2.7.1 Abweichung zur ursprünglichen Strukturannahme

Im Rahmen der analytischen Charakterisierung von Verbindung **4.69** wurde festgestellt, dass der Signalsatz des ^1H -NMR-Spektrums sowie nahezu alle Signale im ^{13}C -NMR-Spektrum zu dem veranschlagten Strukturvorschlag passten. Lediglich im Falle des C1-Kohlenstoffs aus dem Dihydrobenzofuran-Ring wurde eigentlich ein Signal bei ca. 70 ppm erwartet, stattdessen trat jedoch ein Signal bei 29 ppm auf. Da der restliche Signalsatz plausibel zugeordnet werden konnte, wurde die Vermutung aufgestellt, dass im Rahmen der WITTIG-Reaktion möglicherweise eine Isomerisierung der Doppelbindung zum aromatischen Benzofuran **4.70** stattgefunden haben könnte (Abb. 4.11). Das Signal bei 29 ppm passte in diesen Fall sehr gut zu der prognostizierten Lage des C9-Signals.

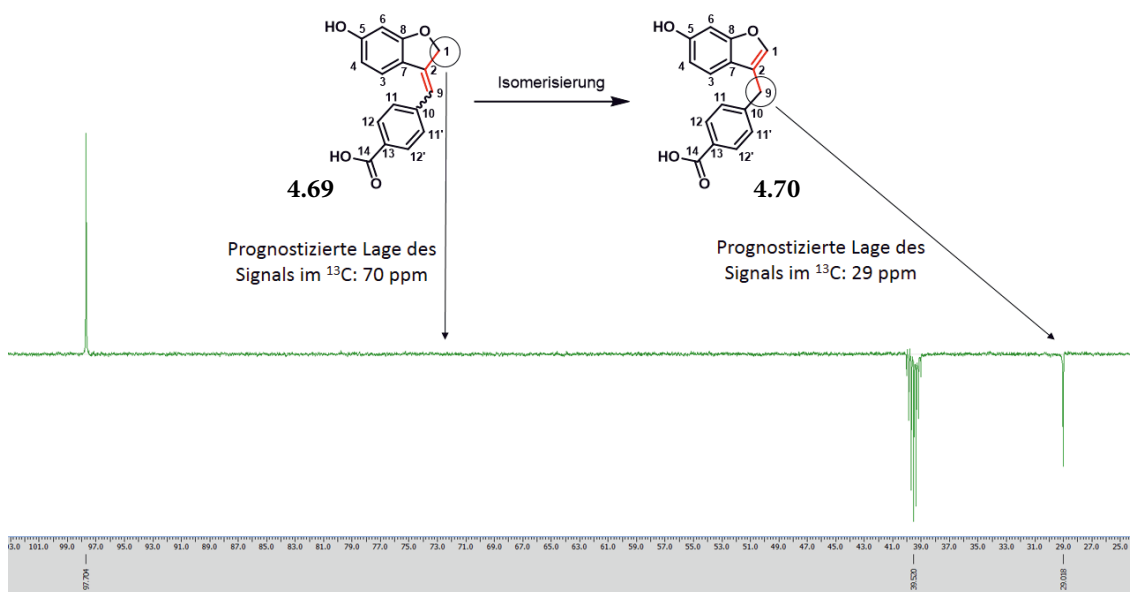


Abb. 4.11: Ausschnitt aus dem *Attached Proton Test* (APT)- ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung **4.69**. Im Falle des ursprünglichen Strukturvorschlags wurde ein Signal für C1 bei ca. 70 ppm erwartet, stattdessen war ein Signal bei 29 ppm vorhanden. Dies führte zu dem Verdacht, dass eine Isomerisierung zum aromatischen Benzofuran **4.70** stattgefunden haben könnte.

Zur Validierung des neuen Strukturvorschlags wurden zwei verschiedene Verfahren gewählt. Auf der einen Seite wurde ein *heteronuclear multiple bond correlation* (HMBC)-NMR-Spektrum aufgenommen. Mit diesem 2D-NMR-Experiment lassen sich Kopplungen zwischen Protonen- und Kohlenstoff-Signalen über mehrere Bindungen darstellen¹⁵⁹. Die Signalintensität korreliert häufig mit der Distanz zwischen den beiden Kopplungspartnern, Kopplungen über eine Entfernung von mehr als 4 Bindungen werden üblicherweise nicht mehr angezeigt. Im HMBC-Spektrum konnte eine Kopplung des Signals für die Methylengruppe aus dem ^1H -NMR-Spektrum zu den Kohlenstoffen C11/11' aus dem ^{13}C -NMR-Spektrum nachgewiesen werden, was die Theorie einer Isomerisierung untermauert (Abb. 4.12).

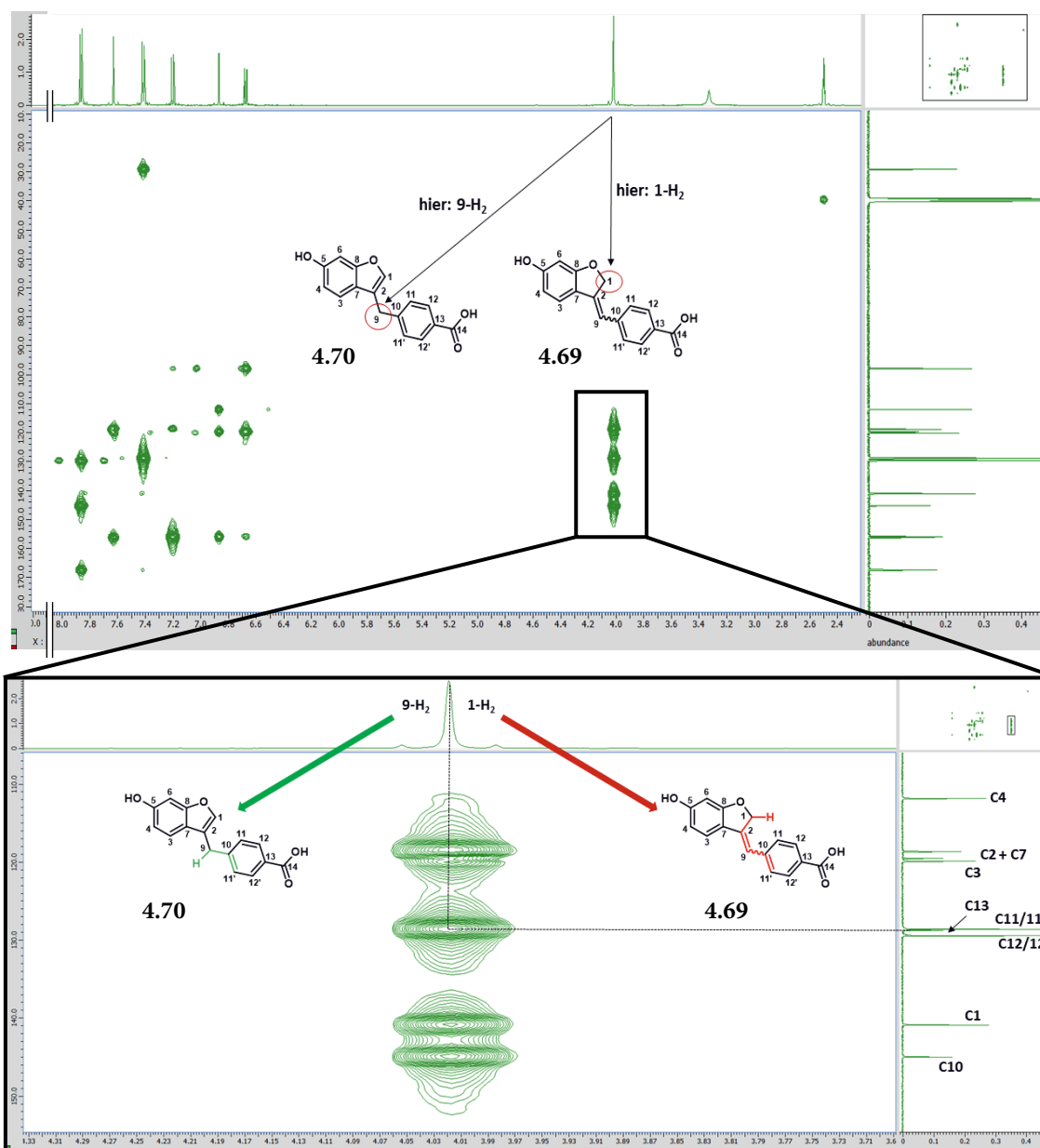
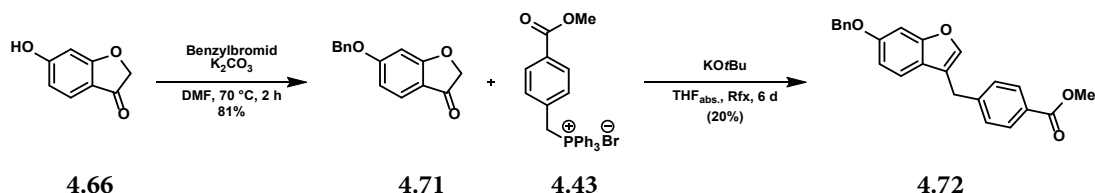


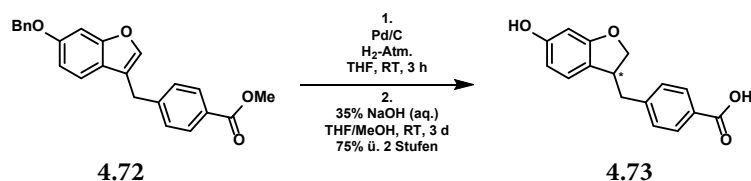
Abb. 4.12: Ausschnitt aus dem HMBC-NMR-Spektrum der Verbindung **4.69**. In der Gegenüberstellung der beiden Strukturvorschläge kann das Kopplungsmuster der Methylengruppe (1-H₂ oder 9-H₂) Hinweise auf die tatsächliche Struktur liefern. Die gut aufgelöste Kopplung zu C11/11' ist über 3 Bindungen (9-H₂ → C11/11', **4.70**) deutlich plausibler als über 5 Bindungen (1-H₂ → C11/11', **4.69**) und deutet damit auf den korrigierten Strukturvorschlag hin.

Auf der anderen Seite sollte als Beleg die neu formierte Doppelbindung reduziert und die Lage der entstandenen Signale im aliphatischen Bereich des ¹³C-NMR-Spektrums vergleichend bewertet werden. Im Falle des neuen Strukturvorschlages war ein Signal bei ca. 70 ppm für die neu gebildete Methylengruppe 1-H₂ zu erwarten. Zu diesem Zweck wurde eine Benzyl-Schätzung des Phenol-Eduktes vorgenommen, da diese bei der katalytischen Hydrierung der Doppelbindung ebenfalls mit abgespalten würde (**Schema 4.25**).



Schema 4.25: Benzyl-Schätzung von Edukt **4.66** und anschließende WITTIG-Reaktion zu **4.72**.

Nach erfolgreicher WITTIG-Reaktion wurde in einer zweistufigen Sequenz zunächst durch katalytische Hydrierung die Doppelbindung reduziert und die Benzylgruppe abgespalten, anschließend erfolgte eine Verseifung des Esters (**Schema 4.26**).



Schema 4.26: Katalytische Hydrierung der Doppelbindung unter gleichzeitiger Abspaltung der Benzylgruppe und anschließende Verseifung des Esters zu **4.73**.

Im APT- ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung **4.73** trat wie erwartet ein neues Signal bei 76 ppm auf (**Abb. 4.13**). Damit konnte der neue Strukturvorschlag mit zwei unterschiedlichen Verfahren unabhängig voneinander bestätigt werden und wurde anschließend als zutreffend übernommen.

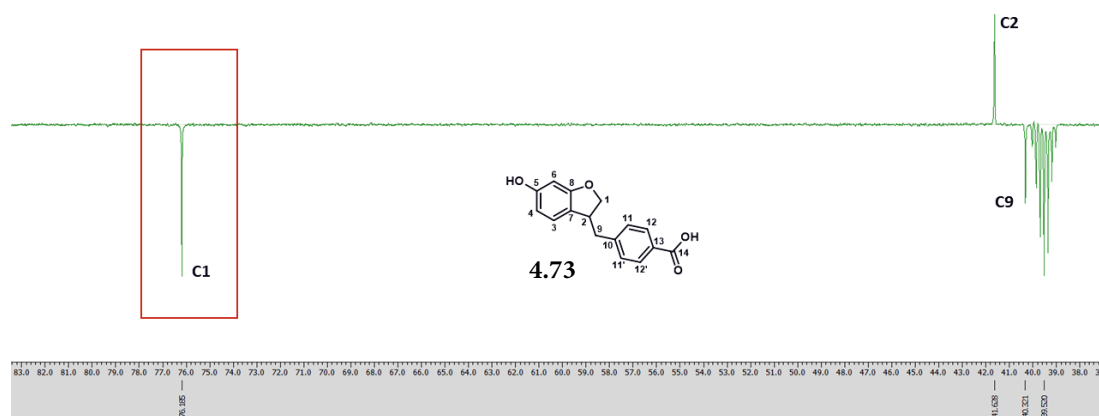
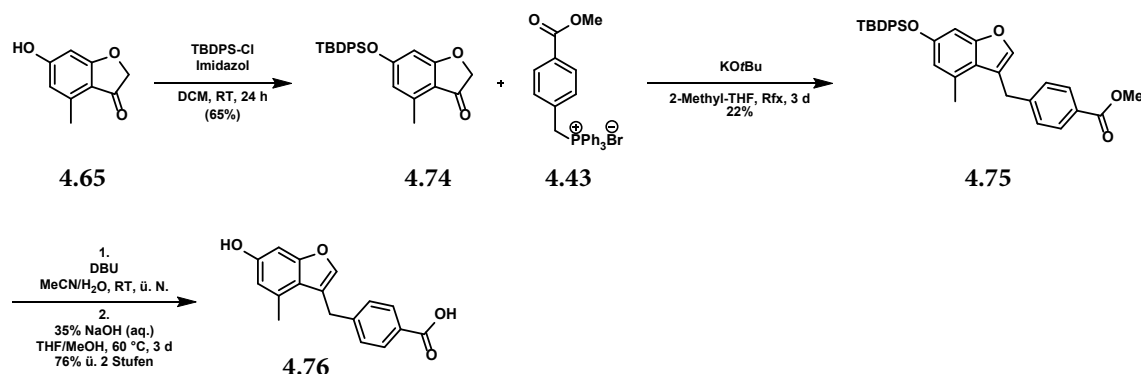


Abb. 4.13: Ausschnitt aus dem APT- ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung **4.73**. Das neue Signal bei 76 ppm bestätigt die Vermutung, dass vor der Reduktion das Benzofuran **4.72** vorlag.

Trotz der notwendigen Korrektur der Produktstruktur sollte das 4-Methyl-Derivat als möglichst gute Annäherung an das ursprüngliche *docking*-Ergebnis synthetisiert werden. Durch die umgelagerte DB war lediglich eine erhöhte Flexibilität des Moleküls durch die zusätzliche drehbare Bindung zu erwarten, was sich im schlechtesten Falle nachteilig auf die Affinität auswirken konnte. Das Produkt sollte jedoch trotzdem in der Lage sein, den vorausgesagten Bindungsmodus einzunehmen, daher erschien die Darstellung des methylierten Analogons weiterhin vielversprechend. Die Synthese erfolgte entlang der zuvor optimierten Syntheseroute, dabei wurde das Produkt **4.76** in einer Gesamtausbeute von 11% über drei Stufen erhalten (**Schema 4.27**). Der Ausbeutenverlust im Vergleich zur vorherigen Synthese war vor allem auf eine eklatant niedrigere Ausbeute bei der

WITTIG-Reaktion (22% vs. 68%) zurückzuführen, was sich mit der stärkeren sterischen Hinderung durch die zusätzliche Methylgruppe erklären lässt.



Schema 4.27: Synthese des methylierten Benzofuran-Derivates **4.76** anhand der zuvor optimierten Syntheseroute.

4.2.8 Synthese - Fazit

Insgesamt konnte für 7 von 21 Strukturvorschlägen mindestens ein strukturell ähnliches Analogon synthetisiert werden. Bei einigen Verbindungen wurde zur Vereinfachung der Synthese eine Änderung der Schlüsselreaktion vorgenommen, zusätzlich war in allen Fällen die Etablierung einer geeigneten Schutzgruppenstrategie zur Ermöglichung der zentralen Bindungsknüpfung nötig. Von der Darstellung einiger Vorschläge wurde vollständig abgesehen, da die Schlüsselreaktion nach synthetischen Maßstäben kaum erfolgversprechend schien. Durch eine rechtzeitige Eliminierung dieser Beispiele hätten andere Strukturvorschläge aus dem *docking* für die Synthese mitberücksichtigt werden können, welche im Zuge der Bewertung der simulierten Bindungsmodi aussortiert wurden. Rückblickend ist festzustellen, dass keiner der potentiellen Inhibitoren in nur einem Schritt synthetisierbar war. Dies lag vor allem an der fehlenden Berücksichtigung von notwendigen Schutzgruppenoperationen und zu befürchtenden Mehrfachreaktionen. Damit konnte das Ziel einer einfachen Synthese auf Grundlage der vorgeschlagenen Schlüsselreaktionen nicht zur Gänze erreicht werden. Trotzdem bot diese Herangehensweise in vielen Fällen einen wertvollen Anhaltspunkt, von dem aus eine geeignete Syntheseroute zügig erarbeitet werden konnte.

Es bleibt zu bemerken, dass die verwendete Toolbox informatischer Methoden in diesem Projekt ihre Stärken vor allem in der Generierung und Durchmusterung einer großen Anzahl an strukturell diversen Molekülen zeigte. Eine gute synthetische Umsetzbarkeit ließ sich jedoch nicht einfach in die Strukturvorschläge ‚hineindesignen‘, stattdessen mussten für alle Moleküle individuelle Syntheserouten erarbeitet werden. Dies zeigt, dass chemisch-synthetische Expertise nach wie vor einen essentiellen Beitrag bei der Suche nach neuen Wirkstoffkandidaten leistet.

4.3 Testung der biologischen Aktivität

Von den 11 synthetisierten Verbindungen waren zwei (**4.45** und **4.63**) nicht ausreichend löslich in DMSO und H₂O, alle anderen wurden in einem biologischen Assay auf ihre inhibitorische Aktivität gegen die PIM1-Kinase getestet (**Abb. 4.14**). Die Testung der synthetisierten Verbindungen wurde von Eurofins® durchgeführt. Es wurde die verbleibende Kinase-Aktivität bei 100 µM bestimmt.

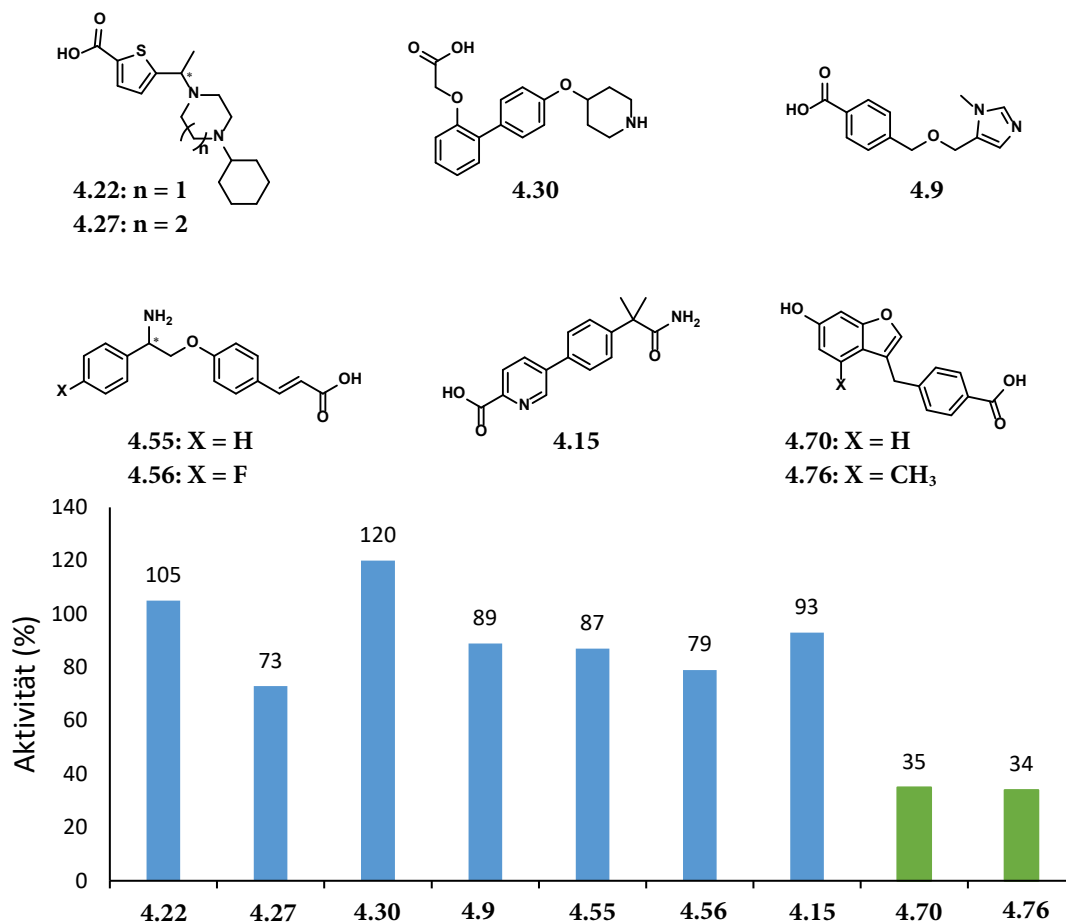


Abb. 4.14: Messung der Aktivität gegen die PIM1-Kinase. Aufgetragen ist die Restaktivität der Kinase bei einer Inhibitorkonzentration von 100 µM.

Von den untersuchten Verbindungen zeigten **4.70** und **4.76** eine signifikant reduzierte (< 50%) Kinase-Aktivität bei 100 µM. Exemplarisch für die Strukturklasse wurde daher für Verbindung **4.70** der IC₅₀-Wert bei Eurofins® bestimmt, dieser lag bei 26.4 µM.

4.4 Proteinkristallstruktur mit 4.70

Alle in diesem Kapitel diskutierten Proteinkristallstrukturen gehen auf PHIL HOCHBAN (AG DIEDERICH, Philipps-Universität Marburg) zurück. Die Diskussion der jeweiligen Bindungsmodi erfolgte in dieser Arbeit nur in einem Maße, wie es für die Nachvollziehbarkeit der weiteren Synthesen erforderlich ist. Für genauere Informationen zur Expression, Kristallisation und Röntgenstrukturanalyse sowie einer ausführlichen Diskussion der Bindungsmodi sei auf seine Dissertationsschrift verwiesen.

Die Identifikation von **4.70** als PIM1-Inhibitor in Verbindung mit dem Umstand, dass für dieses Molekül nur entsprechende Strukturisomere dargestellt werden konnten, warf die Frage nach dem zugrundeliegenden Bindungsmodus auf (**Abb. 4.15**).

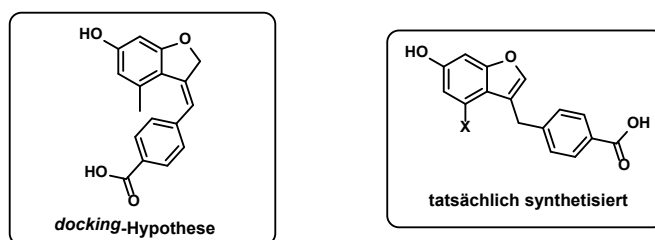


Abb. 4.15: Ursprüngliche *docking*-Hypothese und tatsächlich synthetisiertes Molekül.

Dieser konnte auf Grundlage röntgenkristallographischer Untersuchungen aufgeklärt werden und zeigte eine starke Übereinstimmung mit der vorhergesagten *docking*-Pose (**Abb. 4.16**).

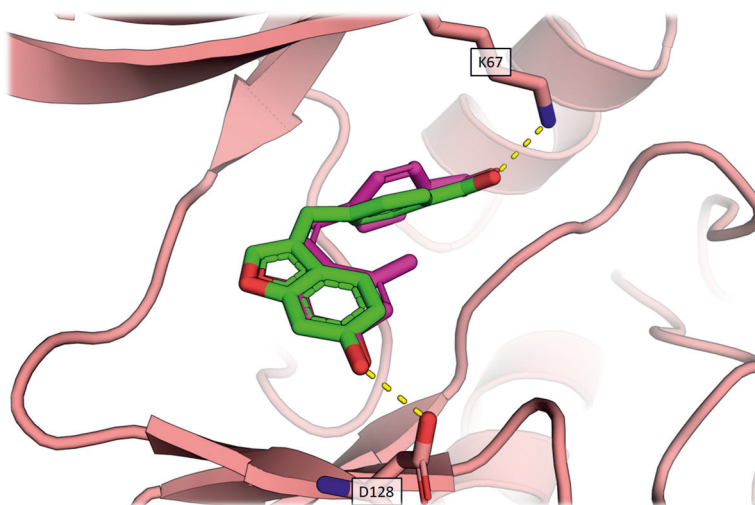


Abb. 4.16: Überlagerung der Kristallstruktur von Verbindung **4.70** (grün) im Komplex mit PIM1 und *docking*-Pose von **4.16** (magenta). In beiden Fällen nimmt der Ligand die gleiche Position und Orientierung ein.

Als maßgebliche Interaktionen für die Bindungsposition wurden eine Salzbrücke zwischen K67 und der Carboxyl-Gruppe sowie eine H-Brücke zwischen D128 und der Phenol-Funktion des Liganden identifiziert. Dadurch wurden die beiden aromatischen Teilbereiche des Moleküls in der gleichen Positionierung zueinander gehalten wie im Falle einer exozyklischen Doppelbindung. Dies legte den Schluss nahe, dass die ursprünglich vorgesehene Stabilisierung durch die Doppelbindung einen positiven Effekt auf das Bindeverhalten haben sollte. Entsprechend wurde in der Planung der nächsten Derivate die Installation einer entsprechenden Doppelbindung angestrebt.

4.5 Virtual screening - Fazit

Ausgehend von einem *virtual screening* konnten für 7 von 21 Strukturvorschlägen Syntheserouten entwickelt werden. Auf Grundlage dieser Vorschläge wurden 11 Verbindungen synthetisiert, von denen 2 aufgrund mangelhafter Löslichkeit nicht in die biologische Testung einbezogen werden konnten. Von den verbleibenden 9 Kandidaten zeigten 2 Verbindungen (**4.70** und **4.76**) mit Benzofuran-Grundstruktur eine relevante Aktivität gegen die PIM1-Kinase, von diesen beiden wurde exemplarisch für Verbindung **4.70** ein IC_{50} -Wert von 26.4 μ M bestimmt. Anhand einer Proteinkristallstruktur konnte zudem der Bindungsmodus von **4.70** bestimmt werden, womit die Grundlage für eine rationale Weiterentwicklung dieser Substanzklasse geschaffen wurde.

Die experimentell ermittelte Kristallstruktur des Protein-Liganden-Komplexes zeigte eine bemerkenswerte Übereinstimmung mit dem vorhergesagten Bindungsmodus. Dies belegt, dass in den durchgeführten *docking*-Experimenten der Bindeprozess an die PIM1 erfolgreich simuliert werden konnte und unterstreicht damit das Potential dieses Ansatzes, vielversprechende Moleküle zu identifizieren. Deshalb erscheint es lohnenswert, in weiteren Arbeiten die Synthese der noch nicht bearbeiteten Strukturvorschläge anzustreben.

Die ursprünglichen 21 Moleküle sind zwar auf kommerziell verfügbare Vorstufen zurückzuführen, in vielen Fällen sind die Ausgangsstoffe jedoch nur zu sehr hohen Preisen erhältlich. Als Grund ist unter anderem eine hohe Komplexität der einzelnen Bausteine anzuführen, sodass zur Etablierung der Syntheserouten, auch bedingt durch niedrige Ausbeuten, z. T. auf günstigere – weil strukturell einfachere – Analoga zurückgegriffen werden muss. Diese Änderungen stellen immer einen Eingriff in die ursprüngliche *docking*-Hypothese dar. Es muss daher abgewogen werden, ob die Veränderung sich nachteilig auf den postulierten Bindungsmodus auswirken kann. Für eine derartige Bewertung nachträglich vorgenommener Modifikationen sind keine allgemeingültigen Regeln vorhanden. Eine Simulation der entsprechenden Änderungen am Computer sollte daher besser in der Lage sein, entsprechende Auswirkungen schon im Voraus zu erkennen.

Rückblickend betrachtet wäre es deshalb im Sinne eines möglichst effizienten Projektfortschreitens sinnvoll, z. B. den folgenden zweistufigen Auswahlprozess zu etablieren: Nach dem ersten *docking* werden die 50 bestbewerteten Moleküle auf ihre Synthetisierbarkeit überprüft. Dabei werden kleine Modifikationen der Struktur zur Vereinfachung der Synthese bzw. Reduktion der Kosten vermerkt. Am Ende dieser Überprüfung steht eine Liste aus ursprünglichen sowie modifizierten Strukturvorschlägen, welche erneut einem *docking* unterzogen werden. Da diese Auswahl an Verbindungen dann bereits hinsichtlich ihrer Synthetisierbarkeit optimiert ist, kann die Zusammenstellung der finalen Zielmoleküle ausschließlich anhand der Bewertung der postulierten Bindungsmodi getroffen werden. Gleichzeitig wird sichergestellt, dass Modifikationen mit nachteiliger Wirkung auf den Bindungsmodus erkannt und verworfen werden. Auf diese Weise ließe sich eine optimale Umsetzung der erzielten *docking*-Ergebnisse mit einer zeitsparenden und kosteneffizienten Synthese kombinieren.

4.6 Weiterentwicklung der Benzofuran-Derivate

Durch die Betrachtung der Kristallstruktur konnten die polaren Interaktionen zu K67 und D128 sowie die exozyklische Doppelbindung als wichtige Strukturmerkmale identifiziert werden. In der Folge sollte die vereinfachte Ausgangsverbindung **4.64** so modifiziert werden, dass die essentiellen Struktur motive mit einer besseren synthetischen Zugänglichkeit kombiniert würden. Gleichzeitig sollte die Eignung verschiedener chemischer Gruppen zur Ausbildung der maßgeblichen Interaktionen überprüft werden.

Die ursprünglich vorgeschlagene Dihydrobenzofuran-Struktur war aufgrund der Isomerisierung der DB im Produkt und der eingeschränkten Verfügbarkeit passender Ausgangssubstanzen nur unzureichend für eine Weiterentwicklung geeignet. Aus diesem Grund wurden die Substanzklassen der Stilbene und Indolin-2-one aus der Ursprungsverbindung abgeleitet, welche leichter zu synthetisieren und zu variieren sein sollten (Abb. 4.17).

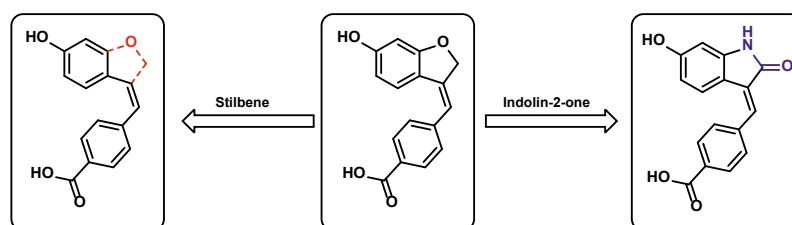
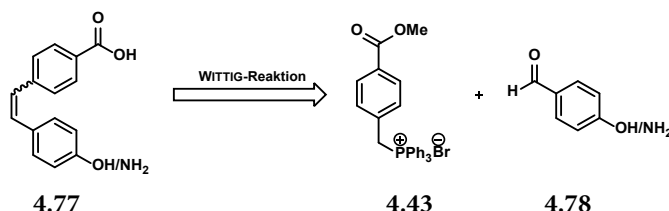


Abb. 4.17: Aus Verbindung **4.64** wurden die Molekülserien der Stilbene und Indolin-2-one abgeleitet. Dadurch sollte die Anordnung der relevanten Struktur motive mit einer besseren synthetischen Zugänglichkeit kombiniert werden.

4.7 Stilbene - 1. Serie

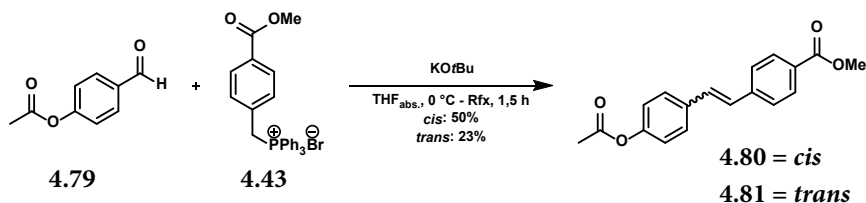
Die Vereinfachung der Ausgangsstruktur durch Eliminierung des Dihydrofuran-yl-Ringes führte zur Verbindungsklasse der Stilbene, welche sich ebenfalls über eine WITTIG-Reaktion synthetisieren ließen. Durch die reduzierte Struktur konnte zwar keine Isomerisierung der Doppelbindung wie im Falle der Dihydrobenzofurane erfolgen, es war jedoch die Bildung von *cis*- und *trans*-Isomeren zu erwarten, von denen insbesondere das *cis*-Isomer ein Struktur analogon des ursprünglichen *docking*-Vorschlags darstellte (Schema 4.28). Um die Relevanz der DB-Konfiguration belegen zu können, sollten trotzdem beide Isomere synthetisiert werden. Zusätzlich sollte die Eignung verschiedener Funktionalitäten, z. B. Amino- und Nitrogruppen, als Wechselwirkungspartner für D128 erprobt werden.



Schema 4.28: Die Substanzklasse der Stilbene war ebenfalls über eine WITTIG-Reaktion zugänglich.

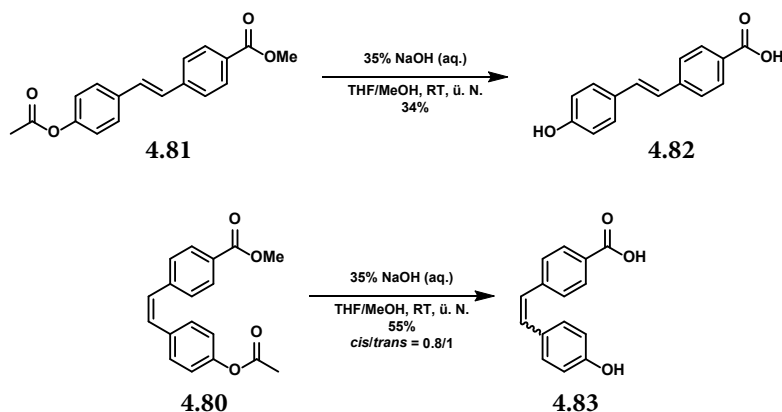
4.7.1 Synthese

Für die Synthese der Stilben-Derivate wurde das bereits vorhandene WITTIG-Salz mit geeigneten Aldehyden umgesetzt. Im Falle der Hydroxy-Verbindung wurde 4-Acetoxybenzaldehyd (**4.79**) genutzt, um eine Deprotonierung des Phenols zu vermeiden (**Schema 4.29**). Die beiden Isomere konnten chromatographisch getrennt und mittels ^1H -NMR-Spektroskopie die jeweilige Konfiguration der Doppelbindung aufgeklärt werden.



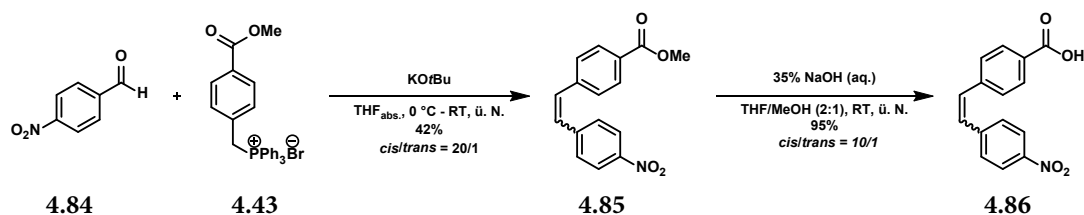
Schema 4.29: Synthese der geschützten Hydroxystilben-Vorläufer **4.80** (*cis*) und **4.81** (*trans*).

Anschließend erfolgte die Abspaltung der Acetylgruppe sowie die Verseifung des Esters in einem Schritt (**Schema 4.30**). Unter den Reaktionsbedingungen fand allerdings eine teilweise Isomerisierung des *cis*-Derivates **4.80** statt, sodass nach der Reaktion ein *cis/trans*-Gemisch im Verhältnis 0.8/1 (**4.83**) vorlag. Dieses konnte chromatographisch nicht getrennt werden, wurde aber als ausreichend erachtet, um einen Unterschied in der Aktivität der beiden Isomere detektieren zu können.



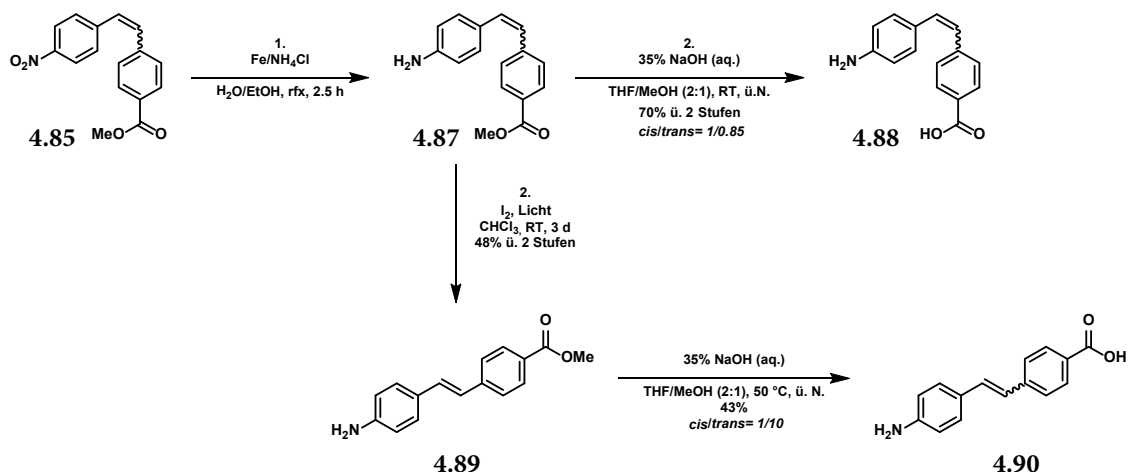
Schema 4.30: Esterspaltung des *trans*- und *cis*-Isomers zum jeweiligen Endprodukt. Im Gegensatz zur stabilen *trans*-Form **4.82** war beim *cis*-Derivat **4.83** eine Isomerisierung der Doppelbindung zu beobachten.

Die Synthese der entsprechenden Nitro- und Amino-Stilbene startete ebenfalls mit einer WITTIG-Reaktion, bei der 4-Nitrobenzaldehyd (**4.84**) als Carbonyl-Komponente eingesetzt wurde. Durch Reduktion der Reaktionstemperatur auf RT gelang es, bei dieser Reaktion fast ausschließlich das *cis*-Isomer (*cis/trans* = 20/1, **4.85**) des entsprechenden Produktes darzustellen. Ein Teil des *cis*-Nitrostilbens wurde als nächstes in einer Esterspaltung zu Verbindung **4.86** umgesetzt, anhand derer die Eignung der Nitrogruppe als Interaktionspartner für D128 überprüft werden sollte (**Schema 4.31**). Bei dieser Reaktion fand erneut eine teilweise Isomerisierung statt, das Produkt wurde als *cis/trans*-Gemisch im Verhältnis 10/1 erhalten.



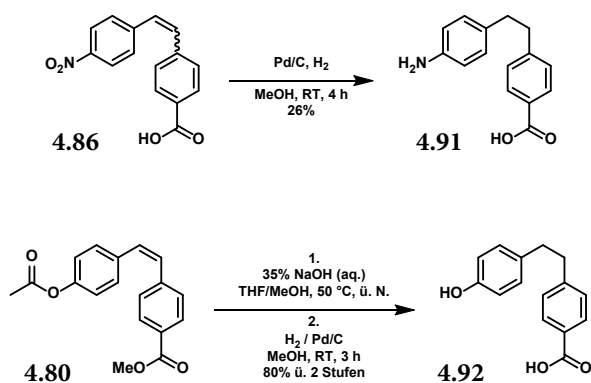
Schema 4.31: Synthese des Nitrostilbens **4.86**. Die WITTIG-Reaktion ergab fast ausschließlich das *cis*-Produkt und ein weiterer Teil lagerte sich im Zuge der Esterspaltung in die *trans*-Form um, sodass am Ende ein Gemisch (*cis/trans* = 10/1) vorlag.

Für die Synthese der Aminostilben-Derivate wurde die Nitro-Gruppe des Nitrostilbens **4.85** zunächst in einer BÉCHAMP-Reduktion zum entsprechenden Amin **4.87** reduziert (**Schema 4.32**). Ein Teil davon wurde in einer Esterspaltung umgesetzt, wobei das Produkt **4.88** erneut als Isomerengemisch (*cis/trans* = 1/0.85) anfiel. Der andere Teil wurde nach einer Vorschrift von GAUKROGER *et al.* unter Einwirkung von Sonnenlicht und katalytischer Mengen Iod zur entsprechenden *trans*-Verbindung **4.89** isomertisiert¹⁶⁷. Anschließend erfolgte auch hier die Esterspaltung zum vornehmlich *trans*-konfigurierten Aminostilben **4.90**, welches ebenfalls als Isomerengemisch (*cis/trans* = 1/10) erhalten wurde. Der Versuch, mithilfe der katalytischen Isomerisierung auch das entsprechende *trans*-Nitrostilben zu synthetisieren, war nicht erfolgreich. Stattdessen war eine irreversible Addition des Iods an die Doppelbindung zu beobachten.



Schema 4.32: Synthese der beiden Aminostilben-Derivate **4.88** und **4.90**. Nach Reduktion der Nitrogruppe erfolgte entweder direkt die Esterspaltung, oder zunächst eine katalysierte Isomerisierung zum *trans*-Produkt. Auf diese Weise konnten jeweils angereicherte Gemische der beiden Formen erhalten werden.

Um die Bedeutung der zentralen Doppelbindung zu untersuchen, wurde von den Hydroxy- und Aminostilbenen jeweils das reduzierte Derivat durch die Pd-katalysierte Hydrierung der Doppelbindung mit H₂ synthetisiert (**Schema 4.33**).



Schema 4.33: Synthese der Derivate **4.91** und **4.92** mit gesättigtem Verbindungsstück durch katalytische Hydrierung mit Pd/C und H₂.

Insgesamt wurde eine Reihe von unterschiedlich dekorierten Stilben-Verbindungen synthetisiert. Die *cis*-Derivate zeigten jedoch eine starke Tendenz zur Isomerisierung der DB, aufgrund derer der Einfluss der Konfiguration auf die biologische Aktivität nicht abschließend beurteilt werden konnte. Allgemein stellte sich die WITTIG-Reaktion aufgrund der Reaktionsbedingungen (wasserfreie Durchführung unter Schutzgas + starke Base) als Beeinträchtigung für eine schnelle und unkomplizierte Synthese heraus. Vor allem die mangelnde Eignung für Edukte mit potentiell aciden Protonen schränkt die Auswahl möglicher Zielverbindungen stark ein. Daher wurde weiterhin nach alternativen Synthesewegen gesucht, welche mit geringeren Einschränkungen bezüglich der verwendbaren Edukte verbunden waren.

4.7.2 Testung der biologischen Aktivität

Die Testung der synthetisierten Stilben-Verbindungen wurde von Eurofins® durchgeführt. Es wurde die verbleibende Kinase-Aktivität bei 100 μM bestimmt (Abb. 4.18).

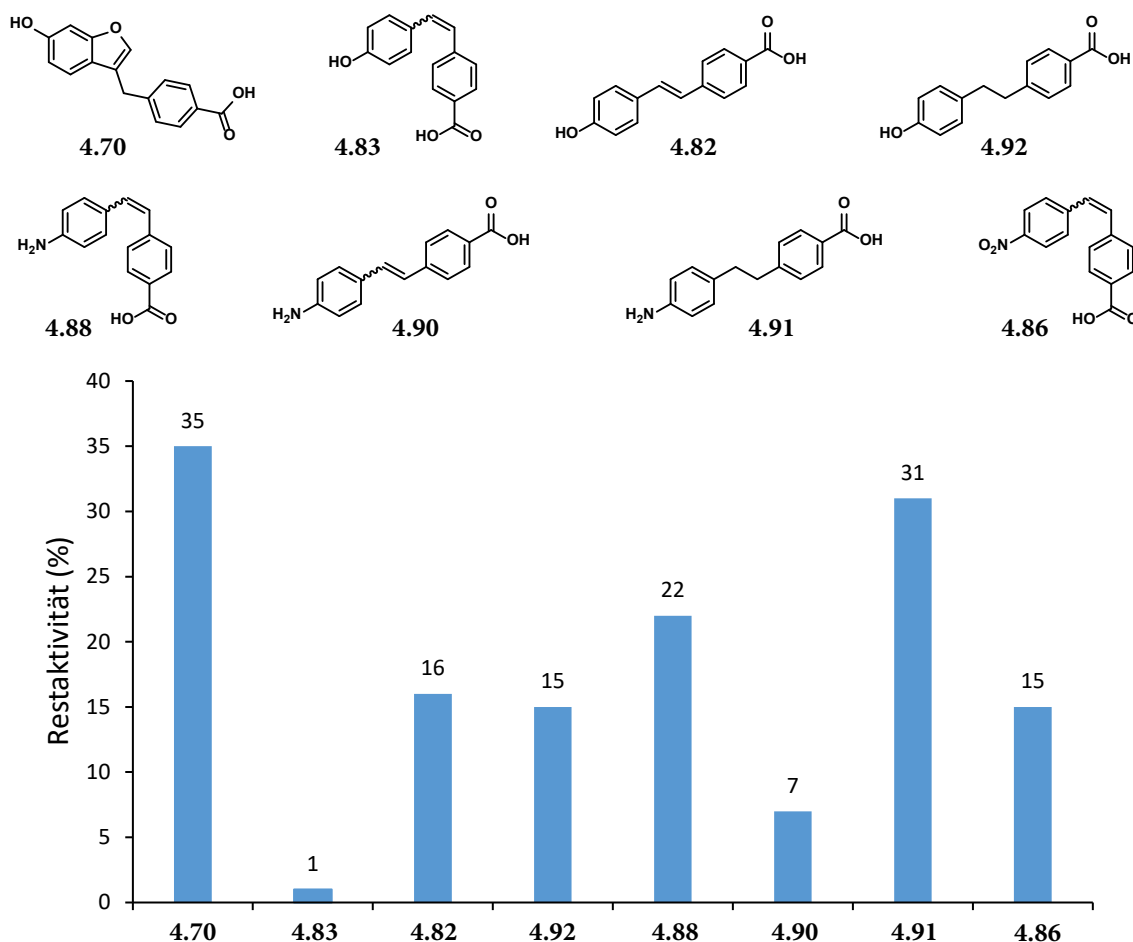


Abb. 4.18: Messung der Aktivität gegen die PIM1-Kinase. Aufgetragen ist die Restaktivität der Kinase bei einer Inhibitorkonzentration von 100 μM . Zu Vergleichszwecken ist Ursprungsverbindung 4.70 mit aufgeführt.

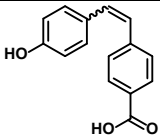
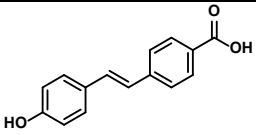
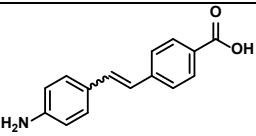
Insgesamt war festzustellen, dass alle Stilben-Derivate eine niedrigere Restaktivität als die Ursprungsverbindung 4.70 bewirkten. Das *cis*-Hydroxystilben (4.83) zeigte verglichen mit 4.70 eine deutlich stärkere Reduktion der Kinaseaktivität, was darauf schließen ließ, dass die Doppelbindung die Orientierung der beiden aromatischen Molekülteile vorteilhaft stabilisiert. Das Hydroxyderivat mit gesättigtem *linker* (4.92) konnte die Aktivität weniger stark reduzieren, was diese Annahme zusätzlich untermauert. Für das *trans*-Hydroxyderivat (4.82) war erstaunlicherweise ebenfalls eine signifikante Aktivität zu beobachten, obwohl der postulierte Bindungsmodus sich ausschließlich auf die *cis*-Konfiguration bezog. Daraus wurde geschlossen, dass dieses Isomer vermutlich einen noch unbekannten Bindungsmodus einnahm.

Im Fall der Aminostilbene war für das *cis*-Derivat 4.88 sowie das *cis*-Nitrostilben 4.86 eine höhere Restaktivität feststellbar als für das *cis*-Hydroxystilben 4.83. Demzufolge waren diese Substitutionsmuster zwar ebenfalls für den entsprechenden Bindungsmodus geeignet, boten jedoch

kein optimales Interaktionspotential. Das *trans*-Aminostilben **4.90** hingegen zeigte im Vergleich eine stärkere Aktivität als das Hydroxy-Derivat **4.82** und schien damit für den neuen Bindungsmodus eine Verbesserung darzustellen. Für das Derivat mit reduzierter Doppelbindung (**4.91**) war eine deutlich niedrigere Hemmung der Aktivität als bei den Verbindungen mit DB festzustellen, was möglicherweise an der veränderten Elektronenkonfiguration durch Auflösung des konjugierten Systems oder der deutlich erhöhten Flexibilität dieser Verbindung lag.

Um eine bessere Vergleichbarkeit der gemessenen Werte mit bereits literaturbekannten Verbindungen zu gewährleisten, wurde exemplarisch für die beiden Hydroxystilbene der IC₅₀-Wert bei Eurofins® bestimmt (Tab. 4.1). Allgemein lagen die Werte jedoch in einem sehr ähnlichen Bereich, sodass keine signifikanten Aussagen durch Vergleiche der gemessenen Verbindungen getroffen werden konnten. Die beste Affinität wies mit 1.60 µM das vornehmlich *trans*-konfigurierte Aminoderivat **4.90** auf.

Tab. 4.1: Übersicht über die gemessene Aktivität (inkl. IC₅₀-Wert) von drei Vertretern der Stilben-Serie.

Verbindung	Struktur	Konfiguration	Restaktivität bei 100 µM [%]	IC ₅₀
4.83		<i>cis/trans</i> = 0.8/1	1	4.32 µM
4.82		<i>trans</i>	16	2.56 µM
4.90		<i>cis/trans</i> = 0.1/1	7	1.60 µM

4.7.3 Proteinkristallstrukturen mit 4.83 und 4.82

Alle in diesem Kapitel diskutierten Proteinkristallstrukturen gehen auf PHIL HOCHBAN (AG DIEDERICH, Philipps-Universität Marburg) zurück. Die Diskussion der jeweiligen Bindungsmodi erfolgte in dieser Arbeit nur in einem Maße, wie es für die Nachvollziehbarkeit der weiteren Synthesen erforderlich ist. Für genauere Informationen zur Expression, Kristallisation und Röntgenstrukturanalyse sowie einer ausführlichen Diskussion der Bindungsmodi sei auf seine Dissertationsschrift verwiesen.

Exemplarisch für die ganze Strukturklasse wurde von den beiden Hydroxy-Stilbenen eine kristallographische Analyse des Bindungsmodus vorgenommen. Von besonderem Interesse war dabei das *trans*-Isomer, da ausgehend von der *docking*-Lösung nur eine Aktivität des *cis*-Isomers erwartet worden war. Dies legte die Vermutung nahe, dass die *trans*-Verbindung eine neue, bisher nicht berücksichtigte Bindungsposition einnahm. Mit der Kristallstruktur des *cis*-Hydroxystilbens **4.83** konnte belegt werden, dass dieses Isomer den gleichen Bindungsmodus wie das Benzofuran-Derivat **4.70** zeigt (Abb. 4.19). Damit bestätigte sich die Hypothese, dass mit den *cis*-Stilbenen die essentiellen Interaktionen der Ursprungsverbindung abgebildet werden können. Bemerkenswerterweise ist in der Kristallstruktur ausschließlich die *cis*-Form gebunden, obwohl die Verbindung als *cis/trans*-Gemisch (0.8/1) eingesetzt wurde. Dies ist umso verwunderlicher, da die *trans*-Form einen geringfügig niedrigeren IC_{50} -Wert aufwies, welcher entsprechend mit einer höheren Affinität assoziiert sein sollte.

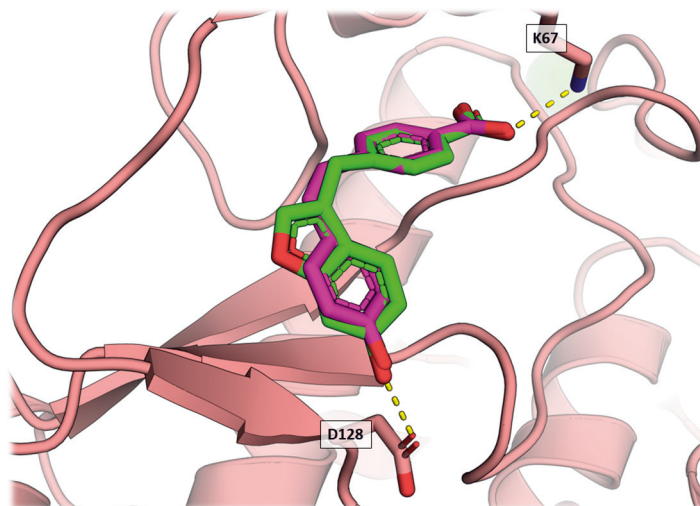


Abb. 4.19: Überlagerung der Kristallstrukturen der Ursprungsverbindung **4.70** (grün) und des *cis*-Hydroxystilbens **4.83** (magenta) im Komplex mit PIM1. Beide Verbindungen nehmen den gleichen Bindungsmodus ein.

In der Kristallstruktur des *trans*-Derivates **4.82** ist zu erkennen, dass ebenfalls über die Carboxylgruppe eine Interaktion mit K67 erfolgt (Abb. 4.20). Diese Wechselwirkung entspricht also dem Interaktionsmuster der Ursprungsverbindung. Die Hydroxygruppe ist aufgrund der Konfiguration jedoch nicht im Bereich der Ribose-Tasche (D128) lokalisiert, sondern streckt sich in Richtung der *hinge*-Region. Dort formt sie eine H-Brücke zu E124, welches sich zu diesem Zweck in Richtung der Bindetasche orientiert und nicht, wie sonst häufig zu beobachten, ungeordnet vorliegt. Zudem war eine deutliche Änderung der Proteinstruktur im Bereich des *G-loops* zu beobachten, welche jedoch für die Weiterentwicklung der Substanzklasse keine Rolle spielte und daher an dieser Stelle nicht diskutiert wird. Für eine nähere Analyse dazu sei hier erneut auf die Dissertation von PHIL HOCHBAN verwiesen.

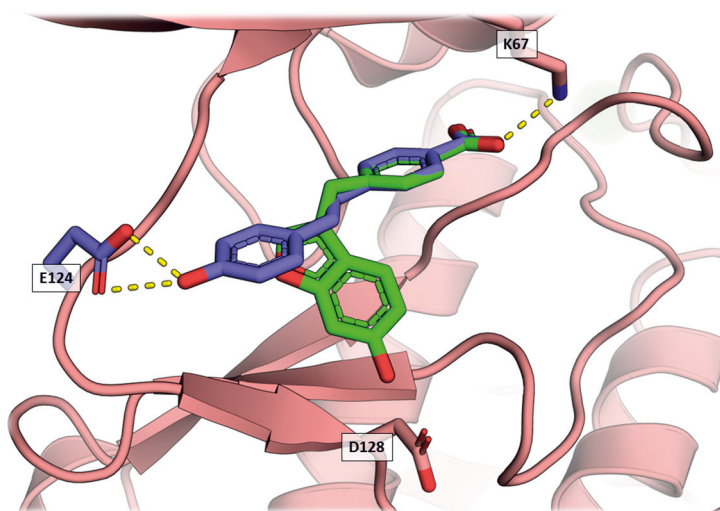


Abb. 4.20: Überlagerung der Kristallstrukturen der Ursprungsverbindung **4.70** (grün) und des *trans*-Hydroxystilbens **4.82** (lila) im Komplex mit PIM1. Letzteres zeigt einen neuen Bindungsmodus, bei dem sich E124 aus der *hinge*-Region in Richtung Bindetasche neigt und dort eine Interaktion mit der Hydroxygruppe des Liganden eingeht.

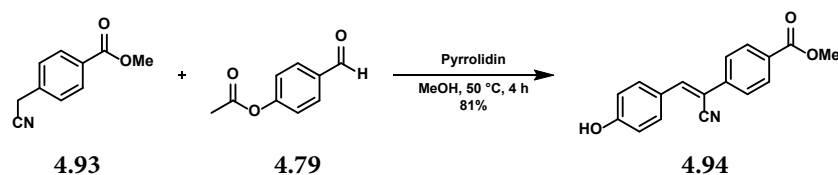
Insgesamt konnten anhand der Kristallstrukturen für die beiden Isomere unterschiedliche Bindungsmodi festgestellt werden. Das *cis*-Derivat nimmt eine Position und Orientierung wie die Ursprungsverbindung ein und war daher geeignet, deren Interaktionsmuster effizient abzubilden. Damit bot es einen sehr guten Ausgangspunkt für die Weiterentwicklung dieser Substanzklasse. Weil jedoch mit der herkömmlichen Syntheseroute nur das Isomerengemisch synthetisiert werden konnte, sollte eine alternative Route etabliert werden, welche die isomerenreine Darstellung der *cis*-Form erlaubt.

Das *trans*-Isomer zeigte einen unerwarteten Bindungsmodus und konnte damit als weiterer Ausgangspunkt für die Entwicklung neuer Inhibitoren identifiziert werden. Der Grund für die nicht vorhergesehene Interaktion ist möglicherweise, dass die betreffende Aminosäure (E124) ohne Wechselwirkungspartner ungeordnet vorliegt, wobei die exakte Position nicht aufgelöst wird. Das sollte Anlass geben zu überprüfen, ob in der Struktur, welche für das *docking* genutzt wurde, diese Aminosäure in der hier gefundenen Orientierung berücksichtigt wurde. Andernfalls könnte ihre Ergänzung dazu beitragen, die Interaktionsmuster in der Bindetasche noch umfassender abzubilden und damit entsprechende *docking*- oder *screening*-Versuche zu unterstützen.

4.8 Stilbene - 2. Serie

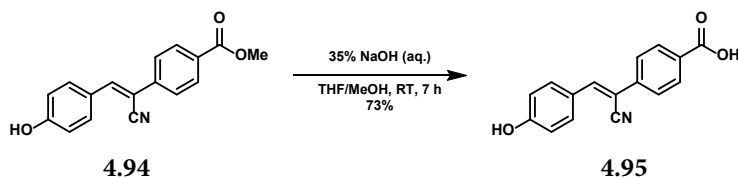
4.8.1 Synthese

Die Gruppe der Cyanostilbene wurde in unserer Arbeitsgruppe bereits im Kontext anderer Projekte intensiv untersucht, daher waren für diese Substanzklasse zuverlässige Syntheserouten etabliert¹⁶⁸. Diese erlaubten den Einsatz einer größeren Bandbreite an Edukten als die WITTIG-Reaktion im Falle der Stilbene, wodurch es nahelag, das Potenzial dieser Verbindungen als PIM1-Inhibitoren zu überprüfen. Zu diesem Zweck wurde das entsprechende Hydroxy-Cyanostilben synthetisiert. Im ersten Schritt wurde durch Kondensation von 4-Cyanomethyl-benzoesäuremethylester (**4.93**) und 4-Acetoxybenzaldehyd (**4.79**) das Cyanostilben **4.94** aufgebaut, dabei erfolgte bereits die Abspaltung der Acetylgruppe (Schema 4.34).



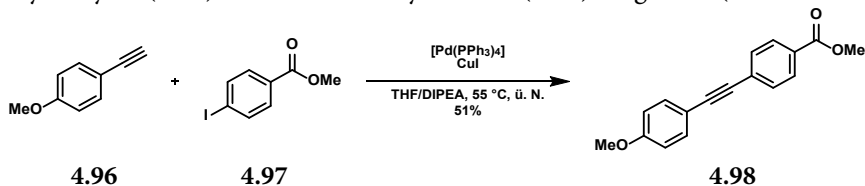
Schema 4.34: Synthese des Cyanostilbens **4.94** durch Kondensation des Cyanomethyl-Aromaten **4.93** mit dem aromatischen Aldehyd **4.79**.

Die anschließende Verseifung des Methylesters ergab das Produkt **4.95**, welches mittels *gated decoupled* ¹³C-NMR-Spektroskopie als *Z*-Isomer identifiziert werden konnte (Schema 4.35)¹⁶⁹. Abweichend von den Stilbenen ist die *Z*-Konfiguration der Cyanostilbene gleichbedeutend mit einer *trans*-Stellung der beiden aromatischen Reste zueinander, da durch die zusätzliche Cyanogruppe bei der Bestimmung der Konfiguration nach CAHN, INGOLD und PRELOG geänderte Prioritäten vorliegen¹⁷⁰.



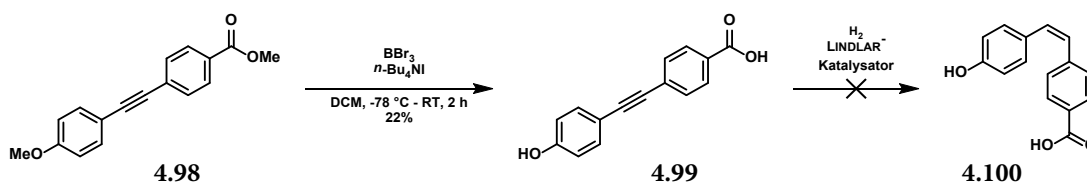
Schema 4.35: Esterspaltung zum fertigen Cyanostilben **4.95**.

Auf Grundlage der vorherigen Ergebnisse sollte ferner eine Syntheseroute für die isomerenreine Darstellung der *cis*-Stilbene erarbeitet werden. Dafür wurde die stereoselektive Reduktion von Alkinen mit einem LINDLAR-Katalysator als Schlüsselreaktion gewählt¹⁷¹. Um eine Isomerisierung im Zuge der Esterspaltung zu vermeiden, sollte dieser Schritt vor dem Aufbau der Doppelbindung stattfinden. Dafür wurde zunächst das entsprechende Alkin **4.98** mithilfe einer SONOGASHIRA-Kupplung aus 4-Methoxyphenylacetylen (**4.96**) und 4-Iodomethylbenzoat (**4.97**) hergestellt (Schema 4.36)¹⁷².



Schema 4.36: Synthese des Methoxyalkin-Vorläufers **4.98** mittels SONOGASHIRA-Kupplung.

Anschließend erfolgte die Abspaltung der Methoxy-Gruppe und Spaltung des Methylesters mit BBr_3 in einem Schritt (**Schema 4.37**)¹⁷³. Das resultierende Alkin **4.99** sollte nach einer Vorschrift von PITTAWAY *et al.* mit einem LINDLAR-Katalysator selektiv zum entsprechenden *cis*-Stilben **4.100** reduziert werden¹⁷⁴. Es konnte jedoch in den durchgeführten Versuchen unter diesen Bedingungen kein Umsatz zum Produkt festgestellt werden. Auch die Variation des Lösungsmittels, die Durchführung bei erhöhter Temperatur und eine Verlängerung der Reaktionszeit führten nicht zur Produktbildung, sodass die geplante Reaktionssequenz nicht erfolgreich beendet werden konnte.



Schema 4.37: Mittels BBr_3 wurden in einem Schritt die Methoxygruppe und der Methylester gespalten. Die anschließende Reduktion zum *cis*-Alken **4.100** mithilfe eines LINDLAR-Katalysators schlug fehl.

Da die Tendenz zur Isomerisierung der *cis*-Stilbene keine rationale Weiterentwicklung der Struktur erlaubte und eine isomerenreine Synthese nicht erfolgreich war, sollte im Folgenden durch Modifizierung der Struktur die Position der beiden aromatischen Systeme fixiert werden. Zu diesem Zweck sollten die Aromaten über einen zentralen (Hetero)zyklus verbrückt werden (**Abb. 4.21**). Darüber hinaus bot dieses Vorgehen den Vorteil, im Zuge der Strukturoptimierung weitere Anknüpfungspunkte für Erweiterungen zu haben.

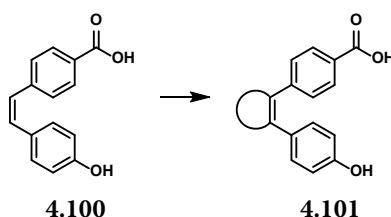


Abb. 4.21: Um die Probleme mit der isomerenreinen Synthese der *cis*-Stilbene zu umgehen, sollten die beiden Aryl-Gruppen stattdessen an benachbarten Atomen eines (Hetero)zyklus installiert werden.

Die generelle Eignung dieses Ansatzes sollte durch die Synthese von zwei verschiedenen Versionen mit unterschiedlichem Strukturmotiven mit unterschiedlichem zentralen 5-Ring überprüft werden. Aus synthetischen Gesichtspunkten wurde hierzu zum einen ein 1,2,3-Triazol (**4.102**) und zum anderen ein Pyrazol (**4.103**) als Zielstrukturen gewählt (**Abb. 4.22**).

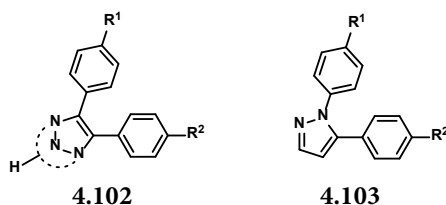
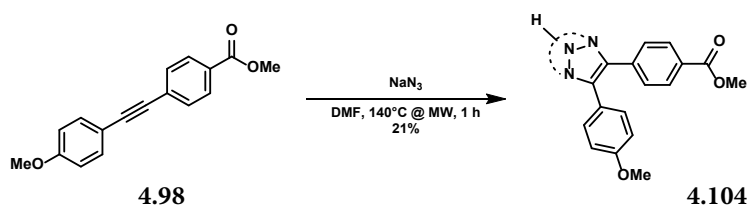


Abb. 4.22: Unterschiedliche Strukturvorschläge für 5-Ring-Heterozyklen mit zwei vicinalen Arylgruppen. Diese sollten die Struktur der *cis*-Stilbene simulieren.

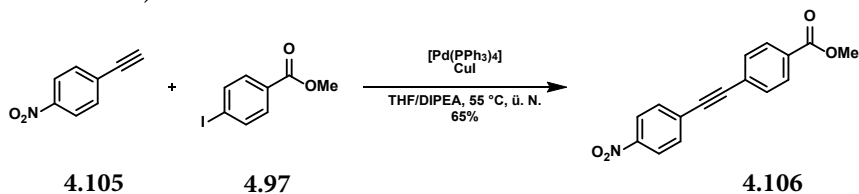
Das Triazol bot die Möglichkeit, durch Substitution am protonierten Stickstoffatom weitere Gruppen im Zuge einer rationalen Optimierung zu installieren. Ohne einen solchen Substituenten lag an dieser Stelle jedoch ein H-Brücken-Donor vor, was sich bei einem fehlenden Interaktionspartner in der Bindetasche nachteilig auf die Affinität auswirken könnte. Im Falle des Pyrazols war dieser Donor nicht vorhanden und daher eine solche Beeinträchtigung nicht zu befürchten.

Für die erste Variante wurde das bereits vorhandene Alkin **4.98** in einer HUISGEN-Cycloaddition¹⁷⁵ mit NaN₃ in der Mikrowelle zu Triazol **4.104** umgesetzt (**Schema 4.38**). Bei dieser Reaktion konnten allerdings nur niedrige Ausbeuten bis 21% realisiert werden. Gründe dafür waren vermutlich die geringe Reaktivität am Alkin durch den +M-Effekt der Methoxygruppe sowie die Spaltung des Esters als konkurrierende Reaktion.



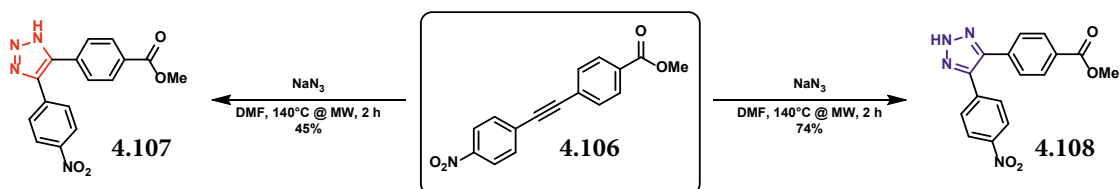
Schema 4.38: HUISGEN-Reaktion zwischen Alkin **4.98** und NaN₃ zum entsprechenden 1,2,3-Triazol **4.104**. Die tautomere Form des Triazols wurde an dieser Stelle nicht bestimmt.

Um die Reaktivität am Alkin zu verbessern und damit die HUISGEN-Reaktion zu unterstützen, wurde entschieden, das elektronenärmere Nitro-Alkin **4.106** zu synthetisieren. Durch anschließende Reduktion der Nitrogruppe zum Amin sollte die Darstellung eines *cis*-Aminostilben-Analogons in besseren Ausbeuten möglich sein. Die Synthese des Alkins erfolgte wieder über eine SONOGASHIRA-Kupplung (**Schema 4.39**).



Schema 4.39: Synthese des Nitroalkin-Vorläufers **4.106** mittels einer SONOGASHIRA-Kupplung.

Bei der anschließenden HUISGEN-Reaktion konnten unter fast gleichen Bedingungen (t = 2 h) Ausbeuten bis 74% erreicht werden. Es war jedoch zu beobachten, dass bei mehrmaliger Durchführung zwei verschiedene Verbindungen gebildet wurden, die beide plausible Signalsätze für das Produkt aufwiesen (**Schema 4.40**). Dies wurde auf die Entstehung von zwei unterschiedlichen tautomeren Ringformen zurückgeführt, der Grund dafür konnte jedoch bisher nicht geklärt werden. Zwar ist der Effekt unterschiedlicher Substituenten auf die Regioselektivität solcher 1,3-dipolaren Cycloadditionen zwischen Alkinen und Aziden untersucht, jedoch wurden in diesem Fall unter exakt gleichen und gut reproduzierbaren Reaktionsbedingungen zwei unterschiedliche Produkte erhalten¹⁷⁶. Diese zwei Verbindungen waren bereits direkt im Anschluss an die Reaktion mittels Dünnschichtchromatographie (DC) voneinander unterscheidbar, darüber hinaus konnten keine Hinweise für eine spätere Änderung der Ringform im Laufe der Aufarbeitung und Reinigung gefunden werden.



Schema 4.40: Bei der HUISGEN-Reaktion des Nitroalkins **4.106** mit Natriumazid wurden unter gleichen Reaktionsbedingungen bei unterschiedlichen Ansätzen zwei verschiedene Produkte erhalten, die beide einen plausiblen Signalsatz für das Produkt im ^1H -NMR-Spektrum aufwiesen. Die jeweilige tautomere Form des Triazols war zunächst nicht bekannt und wurde erst im Rahmen weiterer Untersuchungen aufgeklärt.

Der Vergleich der ^1H -NMR-Spektren der beiden Produkte zeigt die Lage des Triazol-NH und der Ester-Methylgruppe als charakteristischen Unterschied der beiden isolierten Spezies (**Abb. 4.23**).

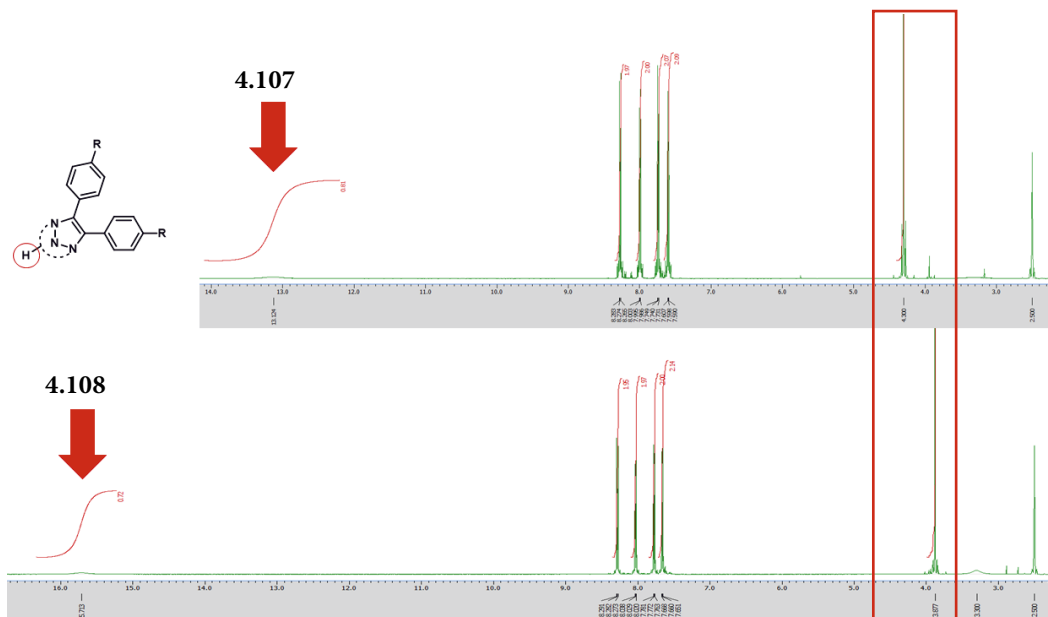
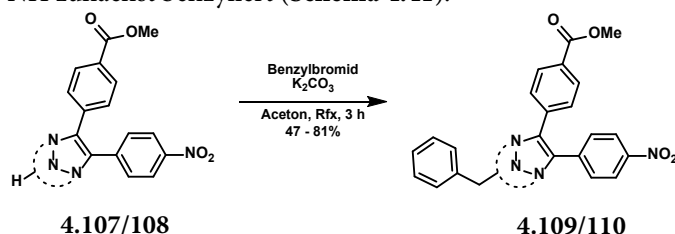


Abb. 4.23: Vergleich der ^1H -NMR-Spektren der beiden Produkt-Spezies. Die auffälligsten Unterschiede sind die Lage des Triazol-NHs (13.1 vs. 15.7 ppm) und des Methylesters (4.3 vs. 3.9 ppm), was auf zwei unterschiedliche Ringtautomere hindeutet.

Eine zweite tautomere Form des 5-Ringes sollte keinen Einfluss auf die Positionierung der beiden Arylgruppen und damit das Hauptziel dieser Strukturvariante haben. Daher wurde es zunächst als ausreichend angesehen, nur eines der beiden Produkte zur gewünschten Endstufe umzusetzen, um die grundsätzliche Eignung dieser Struktur als Inhibitor zu prüfen. Allerdings besaßen die beiden Ringtautomere unterschiedliche Anknüpfungspunkte am jeweiligen Triazol-NH, was verschiedene Möglichkeiten zur Weiterentwicklung der Struktur bot. Aus diesem Grund war es von Interesse, die tatsächliche Konfiguration der beiden Spezies aufzuklären. Als Vorbereitung dafür wurden die beiden Isomere am Triazol-NH zunächst benzyliert (**Schema 4.41**).



Schema 4.41: Benzylierung der beiden HUISGEN-Produkte als Vorbereitung zur Bestimmung der Triazol-Form.

Eine anschließende Analyse der Produkte mittels *nuclear overhauser enhancement spektroskopie* (NOESY) sollte Hinweise auf die Position der Benzylgruppe am jeweiligen Triazol liefern. Mit dieser Technik können Kopplungen über den Raum dargestellt werden, wodurch sich räumlich benachbarte Gruppen identifizieren lassen, auch wenn diese chemisch gesehen über viele Bindungen getrennt sind¹⁵⁹. Im vorliegenden Beispiel sollte das Kopplungsmuster zwischen der benzyllischen Methylengruppe und den Protonen der beiden Aromaten herangezogen werden, um die Positionierung der Benzylgruppe am Triazol zu beurteilen (Abb. 4.24).

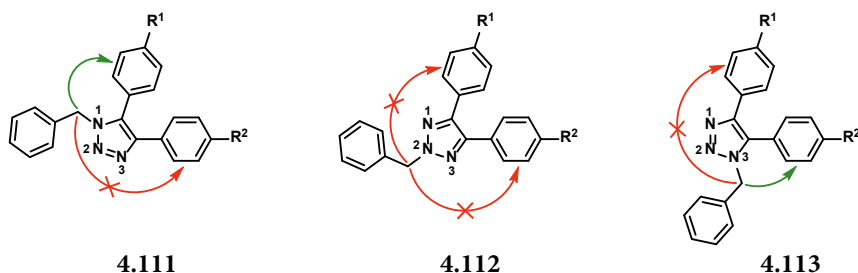


Abb. 4.24: Erwartete NOESY-Kopplungsmuster für die drei möglichen Strukturisomere. Die Substitution kann entweder am N¹-, N²- oder N³-Stickstoff erfolgt sein.

Verbindung **4.107** (Triazol-NH des Eduktes bei 13 ppm) zeigte im NOESY-Spektrum eine Kopplung der Methylengruppe zu Protonen des Ester-Aromaten (Abb. 4.25). Daher wurde für dieses Molekül eine Substitution am N¹-Stickstoff angenommen. Erstaunlicherweise war kein Signal für die Kopplung zwischen der Methylengruppe und Protonen in 4/4'-Position vorhanden, obwohl diese theoretisch weniger weit entfernt sein sollten als die 3/3'-Protonen.

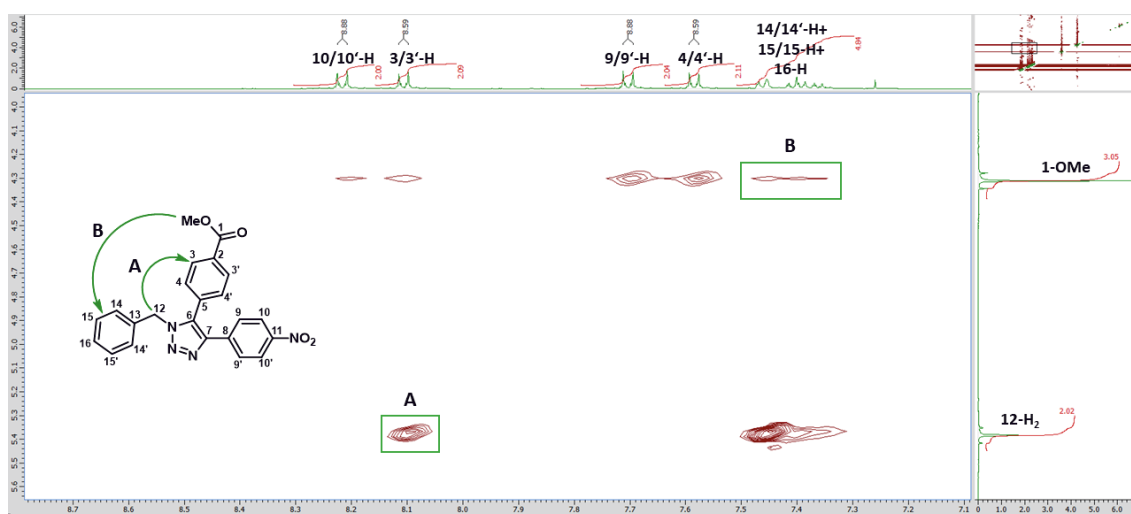


Abb. 4.25: Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum von Verbindung **4.107**. Die Kopplungssignale von (A) 12-H₂ zu 3/3'-H und (B) 1-OMe zu den aromatischen Protonen der Benzylgruppe sind Indizien dafür, dass die Substitution am N¹-Stickstoff erfolgt ist.

Im Gegensatz dazu war im NOESY-Spektrum von Verbindung **4.108** (Triazol-NH des Eduktes bei 15 ppm) kein singuläres Signal für die Wechselwirkung mit einem der beiden Aromaten vorhanden (Abb. 4.26). Stattdessen war eine schwache, symmetrische Kopplung zu 9/9'-H und 4/4'-H erkennbar. Dieses Kopplungsmuster wurde als Indiz für eine Substitution am N²-Stickstoff aufgefasst.

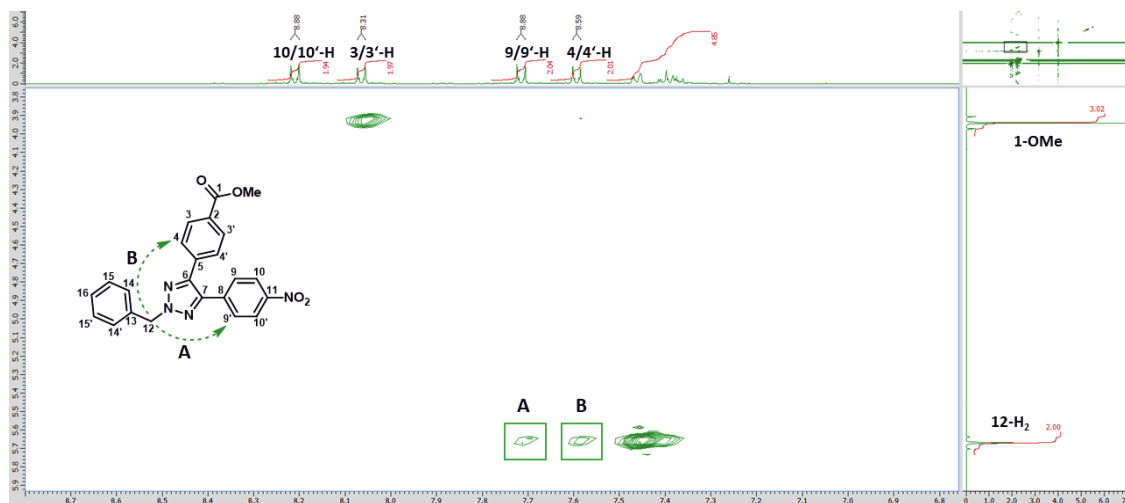
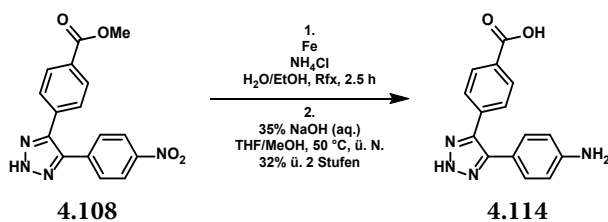


Abb. 4.26: Ausschnitt aus dem NOESY-Spektrum von Verbindung **4.108**. Es ist keine einseitige Kopplung zu einem der beiden Aromaten erkennbar, dafür eine schwache symmetrische Wechselwirkung mit den Protonen in (A) 9/9'- und (B) 4/4'-Position. Dies deutet auf eine symmetrische Verbindung und damit auf eine Substitution am N²-Stickstoff hin.

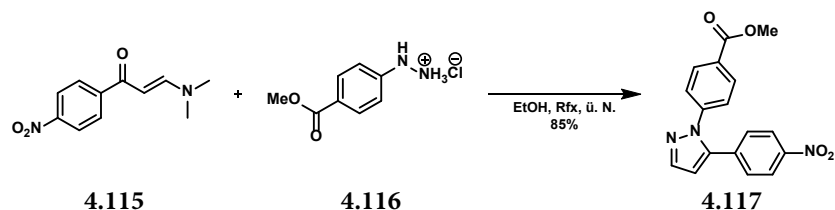
Insgesamt konnten anhand der NOESY-Experimente erste Hinweise auf die tatsächliche Konfiguration der beiden strukturisomeren Triazole gefunden werden. Die entsprechenden Strukturvorschläge wurden für den weiteren Verlauf der Arbeit als gegeben angesehen. Ein abschließender Beweis könnte z. B. durch die Lösung der Röntgenkristallstruktur einer der benzylierten Verbindungen erfolgen. Auch eine Proteinkristallstruktur von PIM1 im Komplex mit einer alkylierten (z. B. Methyl) Variante der Verbindungen könnte diese Information liefern.

Nachdem auf diese Weise eine erste Abschätzung der Triazolform getroffen werden konnte, wurde aufgrund der besseren Ausbeute in der HUISGEN-Reaktion Verbindung **4.108** für die Weiterführung der Synthese ausgewählt. Diese wurde durch Reduktion der Nitrogruppe und anschließende Spaltung des Esters in die Zielverbindung **4.114** überführt (Schema 4.42).



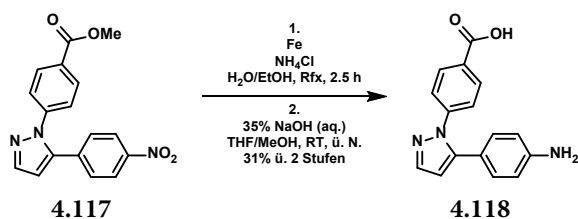
Schema 4.42: Umsetzung von Verbindung **4.108** zur Triazol-Endverbindung **4.114** durch Reduktion der Nitrogruppe und Spaltung des Esters.

Als zweite Variante der ringverbrückten Derivate wurde Pyrazol als zentraler Heterozyklus ausgewählt. Für die Darstellung wurde Verbindung **4.115** mit dem entsprechenden Phenylhydrazin **4.116** umgesetzt (Schema 4.43)¹⁷⁷.



Schema 4.43: Aufbau des *bis*-Aryl-pyrazols **4.117** durch Reaktion eines Arylhydrazins mit einem entsprechenden Michael-Akzeptor¹⁷⁷.

Anschließend wurde auch hier nach Reduktion der Nitrogruppe und anschließender Esterspaltung die Zielverbindung **4.118** erhalten (Schema 4.44).



Schema 4.44: Umsetzung des Kondensations-Produktes **4.117** zur Pyrazol-Endverbindung **4.118** durch Reduktion der Nitrogruppe und Spaltung des Esters.

4.8.2 Testung der biologischen Aktivität

Die Testung der synthetisierten Verbindungen wurde von Eurofins® durchgeführt. Es wurde die verbleibende Kinase-Aktivität bei 100 μM bestimmt (**Abb. 4.27**).

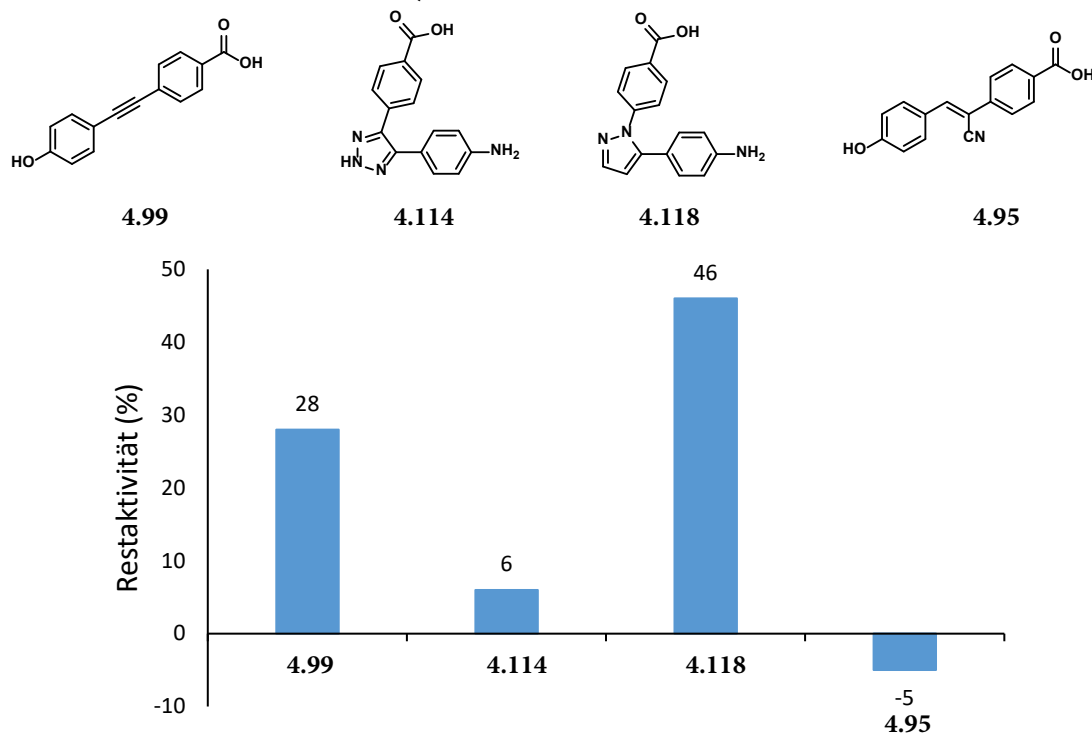
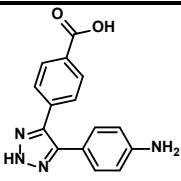
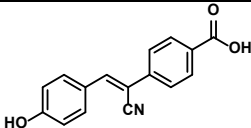


Abb. 4.27: Messung der Aktivität gegen die PIM1-Kinase. Aufgetragen ist die Restaktivität der Kinase bei einer Inhibitorkonzentration von 100 μM .

Erstaunlicherweise war die Aktivität der Verbindung mit zentralem Pyrazol-Ring (**4.118**) erheblich niedriger als bei Triazol **4.114**, obwohl beide auf die gleiche Grundstruktur zurückgehen. Eine mögliche Erklärung wäre, dass im Falle des Pyrazols der heterozyklische Stickstoff in *p*-Position zur Carboxylgruppe durch den +M-Effekt die Acidität derselben reduziert. Dies könnte sich nachteilig auf die Ausbildung der Salzbrücke zu K67 auswirken. Ferner besteht die Möglichkeit, dass das zusätzliche Proton am Triazol zusätzliche Interaktionen eingeht und damit die Bindung unterstützt. Eine Überprüfung dieser Theorie könnte anhand einer Kristallstruktur erfolgen.

Im Falle von Cyanostilben **4.95** war ebenfalls eine starke Aktivität feststellbar, damit konnte die gute Eignung dieses Grundmotivs für die Entwicklung von PIM1-Inhibitoren bestätigt werden. Die Hemmwirkung der Verbindung war sogar stärker ausgeprägt als bei dem *trans*-Hydroxy-Stilben **4.82** (Restaktivität: 16%). Als Grund wäre die Ausbildung neuer Wechselwirkungen durch die Cyanogruppe denkbar, aber auch ein Einfluss auf die Elektronenverteilung im konjugierten System. Dies könnte sich auf die Stabilität der auftretenden Interaktionen auswirken. Von den getesteten Verbindungen zeigten das Triazol **4.114** und das Cyanostilben **4.95** eine signifikante Hemmung der Kinaseaktivität. In der Folge wurde für diese zwei Vertreter bei Eurofins® der IC_{50} -Wert bestimmt (**Tab. 4.2**).

Tab. 4.2: Übersicht über die gemessene Aktivität (inkl. IC₅₀-Wert) von Triazol **4.114** und Cyanostilben **4.95**.

Verbindung	Struktur	Konfiguration	Restaktivität bei 100 µM [%]	IC ₅₀
4.114		-	6	4.49 µM
4.95		Z	-5	1.72 µM

4.9 Stilbene - Fazit

Insgesamt konnte im Rahmen dieser Arbeit die Strukturklasse der Stilbene als vielversprechendes Grundmotiv für die Entwicklung von PIM1-Inhibitoren etabliert werden. Dafür wurden Vertreter dieser Substanzklasse mit unterschiedlichen Substitutionsmustern synthetisiert und auf ihre inhibitorische Aktivität gegen die PIM1-Kinase untersucht. Anhand von Kristallstrukturen war es zudem möglich, für die *cis*- und *trans*-Form den jeweiligen Bindungsmodus zu bestimmen und die wichtigsten Wechselwirkungen zu identifizieren. Auf Grundlage der dabei gewonnenen Erkenntnisse wurden verschiedene Struktur motive als Ausgangspunkte für die weitere Synthese potentieller Inhibitoren etabliert, z. B. ringverbrückte Systeme mit vicinalen aromatischen Resten sowie Cyanostilbene.

Die Strukturklasse der 5-Ringe mit zwei *ortho*-ständigen aromatischen Substituenten wurden ausgehend von den *cis*-Stilbenen entwickelt. Dabei stand das Ziel im Vordergrund, die beiden Aromaten in einer *cis*-mimetischen Anordnung zu fixieren, sowie ggf. Anknüpfungspunkte in der Struktur für eine systematische Weiterentwicklung zu schaffen. Ausgehend von diesem Anforderungsprofil wurden das Triazol **4.114** synthetisiert, welches die PIM1-Kinase mit einem IC₅₀-Wert von 4.49 µM hemmt.

Durch das Auftreten von zwei unterschiedlichen Ringkonfigurationen im Fall der 1,2,3-Triazol-basierten Inhibitoren bietet sich die Möglichkeit, auch das andere Isomer auf seine Tauglichkeit als PIM-Inhibitor zu testen. Die Aufklärung der zugrundeliegenden Mechanismen, z. B. dem Einfluss der Temperatur, die Konzentration der Edukte und die Wahl des Lösungsmittels, sollte zudem eine gerichtete Synthese des vielversprechenderen Isomers erlauben. Ferner könnten neben den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten NOESY-Experimenten weitere Möglichkeiten zu Validierung der Strukturbestimmung herangezogen werden, z. B. durch die Lösung der Kristallstruktur – im Komplex mit dem Protein oder als Reinsubstanz – einer *N*-alkylierten Variante der Verbindung.

Ferner wäre eine systematische Optimierung der interagierenden Funktionalitäten möglich (**Abb. 4.28**). Dies könnte anhand bereits bekannter Beispiele aus der Literatur geschehen, indem die relevanten Molekülteile publizierter Inhibitoren gezielt in die Struktur der Triazol-Verbindungen integriert würden. Zudem wäre ein Austausch der Gruppen nach rationalen Bewertungsmaßstäben möglich (welche Interaktion wird eingegangen, welche chemischen Funktionen können diese vermitteln).

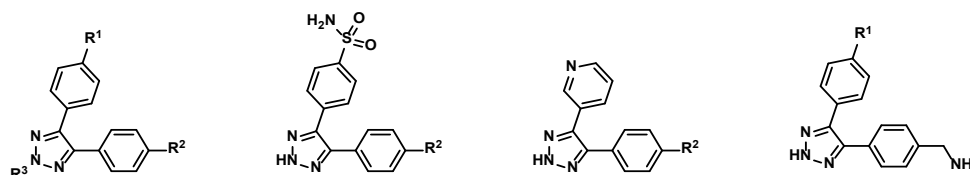


Abb. 4.28: Variationsmöglichkeiten der Struktur ausgehend von der Triazol-Verbindung **4.114**.

Weiterhin könnte eine Abwandlung des zentralen aromatischen Ringes erfolgen, im Zuge derer auch die Position der beiden Arylreste sowie der daran befindlichen Substituenten variiert würde. Dies könnte z. B. im Rahmen der HUISGEN-Reaktion durch die Kombination verschiedener Arylazide und Phenylalkyne durchgeführt werden (**Abb. 4.29**).

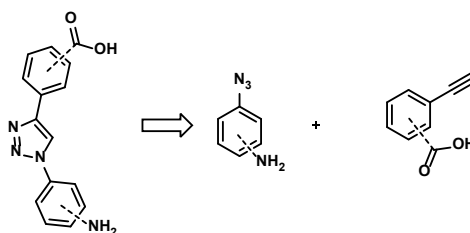
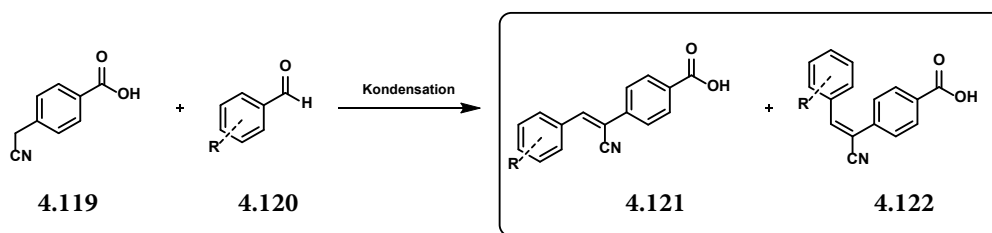


Abb. 4.29: Geänderte Retrosynthese bei Variation der Aryl-Position am zentralen 5-Ring. In diesem Fall könnte eine systematische Optimierung des Substitutionsmusters empfehlenswert sein.

Ein Abgleich dieses explorativen Ansatzes mit den Ergebnissen entsprechender *docking*-Versuche könnte zudem wertvolle Hinweise darauf liefern, ob die für das *docking* getroffenen Grundannahmen bezüglich des Interaktionsmusters der Bindetasche – wie im Falle der *trans*-Stilbene – erweitert werden sollten.

Die Gruppe der Cyanostilbene bietet durch die einfache Rückführbarkeit auf eine zentrale Verknüpfungsreaktion die Möglichkeit, erneut auf die am Anfang des Projektes genutzten Techniken zur Erstellung von virtuellen Molekülbibliotheken zurückzugreifen. Zu diesem Zweck könnte 4-Cyanomethylbenzoesäure (**4.119**) *in silico* mit einer Reihe von kommerziell verfügbaren aromatischen Aldehyden (**4.120**) verknüpft werden (**Schema 4.45**). Dabei muss jedoch beachtet werden, dass auch bei dieser Reaktion prinzipiell die Bildung von *Z*- (**4.121**) und *E*-Isomeren (**4.122**) möglich ist. Daher sollten beide möglichen Isomere in die nachfolgenden *docking*-Versuche einbezogen werden.



Schema 4.45: Möglicher Ansatz für ein *virtual screening* auf Grundlage der Cyanostilben-Struktur.

Eine weitere Möglichkeit wäre, ausgehend von den gelösten Kristallstrukturen eine rational motivierte Weiterentwicklung der Stilbene anzustreben. Entsprechende Modifikationen könnten z. B. mit dem Ziel vorgenommen werden, zusätzliche Aminosäuren in das Interaktionsnetzwerk des Inhibitors mit einzubinden, wie exemplarisch am Beispiel des *trans*-Hydroxystilbens gezeigt wird. Es könnte beispielsweise versucht werden, über die *meta*-Position der Carboxylgruppe des Inhibitors eine Wechselwirkung mit der Hauptketten-Carbonylfunktion von E121 zu vermitteln (**Abb. 4.30**). Eine solche Interaktion ist auch bei der Bindung von ATP zu beobachten und wird auf Seiten des Liganden über eine aromatische Aminogruppe vermittelt. Als Erweiterung der Struktur würden sich daher eine Amino- oder Hydroxygruppe in dieser Position anbieten.

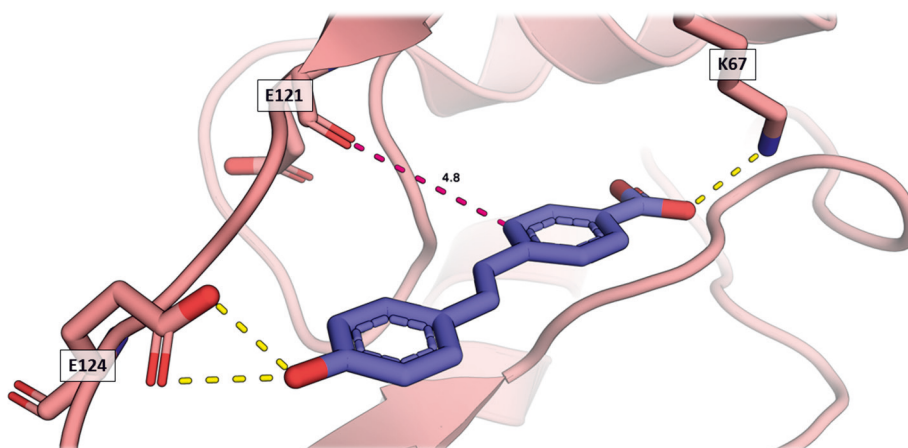


Abb. 4.30: Ausschnitt aus der Kristallstruktur des *trans*-Stilbens **4.82** im Komplex mit PIM1 (H-Brücken in gelb). Durch Einführung einer geeigneten funktionellen Gruppe *meta* zur Carboxylgruppe könnte eine Interaktion zu E121 (pink) vermittelt werden.

Weiterhin könnte ausgehend vom Hydroxy-Aromaten durch die Einführung basischer Gruppen eine Wechselwirkung mit D128 angestrebt werden (**Abb. 4.31**). Dabei sollte berücksichtigt werden, dass die Molekülerweiterung eine hohe Flexibilität benötigt, um sich aus der Ebene des aromatischen Stilbengerüsts heraus in Richtung D128 orientieren zu können.

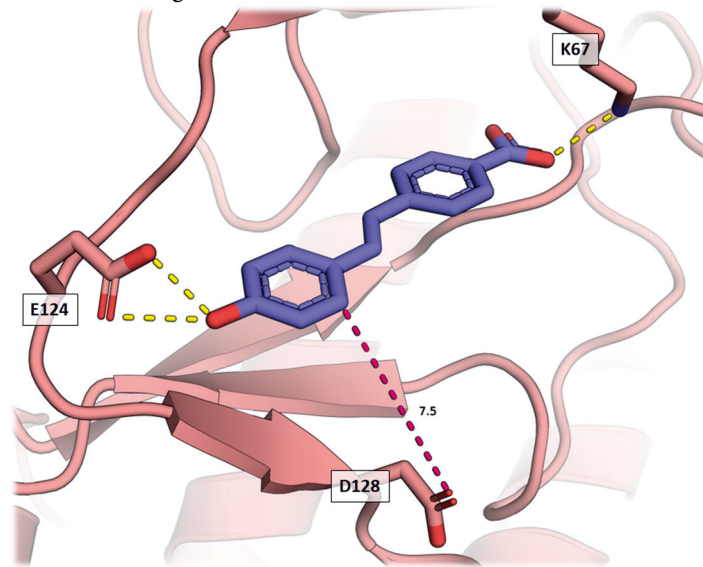


Abb. 4.31: Ausschnitt aus der Kristallstruktur des *trans*-Stilbens **4.82** im Komplex mit PIM1 (H-Brücken in gelb). Ausgehend vom Hydroxy-Aromaten könnte D128 mit basischen Molekülerweiterungen adressiert werden (pink).

Damit bestehen also eine Reihe von vielversprechenden Möglichkeiten, ausgehend von der Klasse der Stilbene neue Hemmstoffe für die PIM1-Kinase zu entwickeln. Im Rahmen nachfolgender Arbeiten könnten die zugrundeliegenden Interaktionsmuster weiter optimiert werden, um das Potential dieser Substanzklasse in Form von hochaffinen Inhibitoren nutzbar zu machen.

4.10 Indolin-2-one - 1. Serie

In einem zweiten Ansatz wurde aus dem ursprünglichen Strukturvorschlag **4.64** zunächst die Klasse der 2,3-Dihydrobenzofuran-2-one abgeleitet (**Abb. 4.32**). Anders als bei den Stilbenen, wo eine Reduktion der Komplexität zur Vereinfachung der Synthese notwendig war, wurde im diesem Fall eine Erhöhung der Komplexität zur Ermöglichung einer neuen Syntheseroute genutzt. Zugleich sollte durch das neu eingeführte Carbonyl eine Isomerisierung der Doppelbindung im Zuge der Verknüpfung vermieden werden.

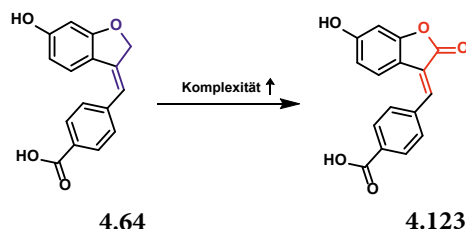
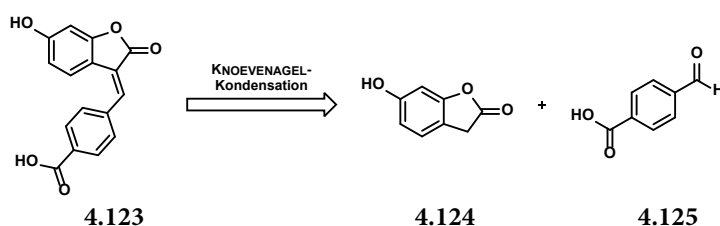


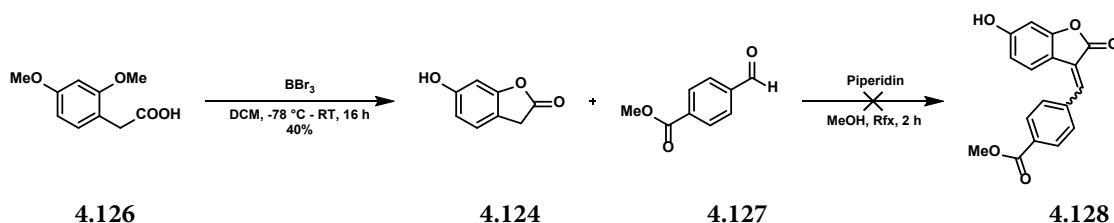
Abb. 4.32: Die Abwandlung des Dihydrobenzofuran-Grundkörpers zum 2,3-Dihydrobenzofuran-2-on ermöglicht eine neue Syntheseroute, bei der die zentrale Doppelbindung erhalten bleibt.

Zentraler Schritt der Synthese sollte die KNOEVENAGEL-Kondensation eines 2-Cumaranon-Grundkörpers mit entsprechenden aromatischen Aldehyden sein (**Schema 4.46**)¹⁷⁸. Bei dieser Reaktion war die Ausbildung von *E/Z*-Isomeren zu erwarten, was eine Methode zur Bestimmung der Konfiguration notwendig machte.



Schema 4.46: Die retrosynthetische Betrachtung der neuen Strukturklasse ergab eine KNOEVENAGEL-Kondensation als zentrale Verknüpfung.

Für die Darstellung der Zielverbindung musste zunächst das benötigte 6-Hydroxy-2-cumaranon (**4.124**) synthetisiert werden. Dazu wurde 2,4-Dimethoxyphenylessigsäure durch Spaltung der beiden Methylether und anschließende Cyclisierung in einem Schritt mittels BBr_3 zum gewünschten Produkt umgesetzt (**Schema 4.47**). Die anschließende Kondensation mit Methyl-4-formylbenzoat (**4.127**) war leider nicht erfolgreich, was unter anderem auf Stabilitätsprobleme des Lactons zurückgeführt wurde. Unter den basischen Bedingungen war selbst durch geringe Mengen Wasser eine Hydrolyse der Verbindung zu befürchten¹⁷⁹.



Schema 4.47: Der benötigte Cumaranon-Baustein **4.124** konnte ausgehend vom Phenylessigsäure-Derivat **4.126** dargestellt werden, die anschließende KNOEVENAGEL-Reaktion zu **4.128** war jedoch nicht erfolgreich.

Eine Erhöhung der Stabilität des 5-Ringes wurde daher als essentiell eingeschätzt, um die zentrale Bindungsknüpfung durch die Kondensation zu ermöglichen. Aus diesem Grund wurde eine Änderung der Grundstruktur vom Cumaranon zum Indolin-2-on vorgenommen (**Abb. 4.33**). Da der entsprechende Vorläufer **4.129** sehr teuer und eine entsprechende Synthese äußerst zeitintensiv war, wurde zusätzlich die Hydroxygruppe in 6-Position durch eine Aminogruppe ersetzt (**4.130**).

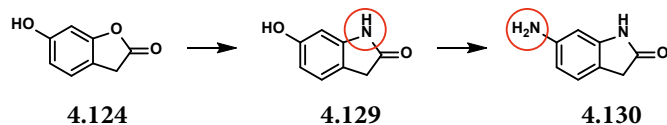
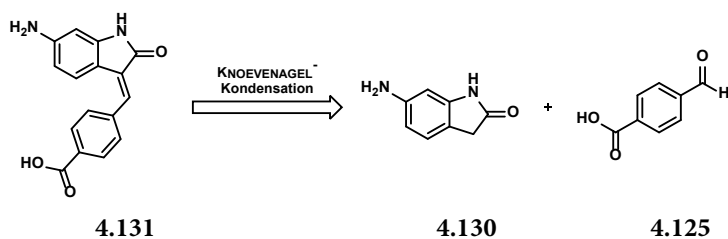


Abb. 4.33: Zur Erhöhung der Stabilität wurde aus dem Cumaranon **4.124** das entsprechende Indolin-2-on **4.129** abgeleitet. Um die Synthese dieses Vorläufers zu erleichtern, wurde zusätzlich die Hydroxy- gegen eine Aminogruppe ausgetauscht (**4.130**).

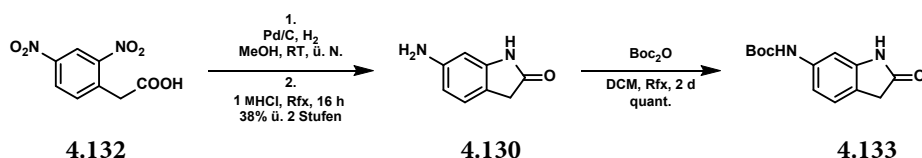
Diese Maßnahme erleichterte die Synthese des Bausteins erheblich, gleichzeitig war auf Grundlage der Erfahrungen mit den Stilbenen anzunehmen, dass ein Amin in dieser Position ebenfalls zur Ausbildung der wichtigen Interaktion zu D128 geeignet war. Damit ergab sich Verbindung **4.131** als neue Zielstruktur für die Synthese (**Schema 4.48**).



Schema 4.48: Die neue Zielstruktur **4.131** sollte durch KNOEVENAGEL-Kondensation des Indolin-2-on-Grundkörpers mit einem entsprechenden aromatischen Aldehyd dargestellt werden

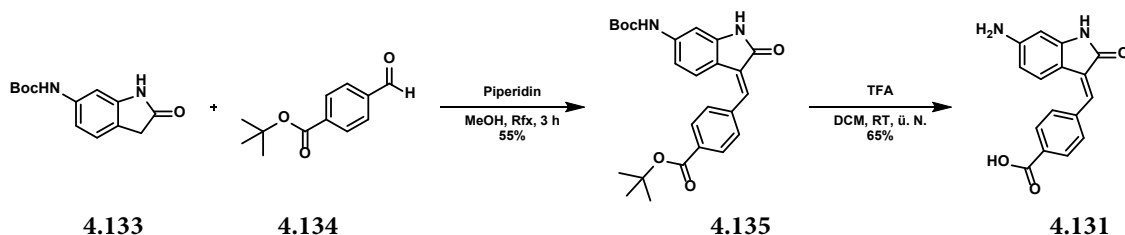
4.10.1 Synthese

Die Darstellung der Zielverbindung startete mit der Synthese des neuen Grundkörpers. Dafür wurde 2,4-Dinitrophenylessigsäure (**4.132**) zunächst katalytisch hydriert und anschließend unter Rfx in 1 M HCl (aq.) cyclisiert (**Schema 4.49**). Danach erfolgte eine Boc-Schätzung der Aminofunktion zu **4.130**, um eine Kondensation zum Imin in Konkurrenz zur geplanten KNOEVENAGEL-Reaktion zu verhindern.



Schema 4.49: Synthese des Indolin-2-on-Grundkörpers und anschließende Boc-Schätzung der Aminogruppe zu Verbindung **4.133**.

Die Schätzungsreaktion lieferte zunächst nur schlechte Ausbeuten, da in einer Nebenreaktion gleichzeitig eine Boc-Schätzung des Lactam-Stickstoffs stattfand. Erst durch den Verzicht auf eine zusätzliche Base konnte diese umgangen werden, wodurch exzellente Ausbeuten erreicht wurden. Danach erfolgte die zentrale Bindungsknüpfung durch die Kondensation an einen entsprechenden Aldehyd **4.134** (**Schema 4.50**)¹⁸⁰. Mit dem Ziel einer möglichst effizienten Synthese wurde die Säuregruppe dabei als *tert*-Butylester eingeführt, da dessen Spaltung unter den gleichen Bedingungen wie die Entschätzung der Boc-Gruppe möglich war. Im letzten Schritt der Synthese erfolgte eine simultane Spaltung des *tert*-Butylesters und der Boc-Schutzgruppe mit TFA, wobei die Zielverbindung **4.131** als *E*-Isomer erhalten wurde.



Schema 4.50: KNOEVENAGEL-Kondensation zum geschützten Vorläufer **4.135**¹⁸⁰. Nach Abspaltung der Schutzgruppen mit TFA wurde die Zielverbindung **4.131** erhalten.

Nach erfolgter Kondensation stellte sich die Frage nach der Konfiguration der neu gebildeten Doppelbindung. Im ¹H-NMR-Spektrum war nur ein Signalsatz vorhanden, deshalb war die selektive Bildung von nur einem der beiden möglichen Isomere anzunehmen. Für die Bestimmung der Konfiguration wurde auf Arbeiten von SUN *et al.* zurückgegriffen, welche sich bereits 1998 im Rahmen der Entwicklung von Tyrosinkinase-Inhibitoren mit 3-substituierten Indolin-2-onen beschäftigt hatten¹⁸¹. Darin konnte nachgewiesen werden, dass die Lage der Signale im ¹H-NMR-Spektrum mit der vorhandenen Konfiguration korreliert ist. Dies betrifft vor allem die Protonen des Aromaten, welcher als Aldehyd eingeführt wurde. Im Falle einer *E*-konfigurierten Verbindung lag das Signal für die Protonen in 2/2'-Position zwischen 7.45 und 7.84 ppm, beim *Z*-Isomer war das Signal stattdessen zwischen 7.85 und 8.53 ppm lokalisiert (**Abb. 4.34**). Dieser Zusammenhang wurde über eine Reihe von verschiedenen Derivaten anhand von NOESY-Experimenten bestätigt.

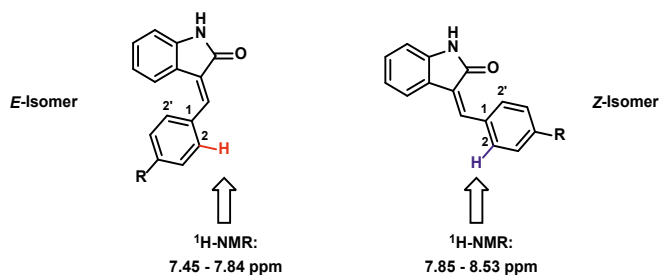


Abb. 4.34: Die Verschiebung des Signals der Protonen in (hier) 2/2'-Position im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum korreliert mit der Konfiguration der Doppelbindung.

Im weiteren Verlauf der vorliegenden Arbeit wurde daher die Bestimmung der Konfiguration aller entsprechenden Verbindungen durch die Auswertung der Lage dieser Signale im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum durchgeführt. Dies wird im Folgenden am Beispiel von Verbindung **4.135** illustriert: Die Lage des fraglichen Protonen-Signals (hier: 11/11'-H) bei 7.78 ppm deutet in diesem Fall auf eine *E*-konfigurierte Doppelbindung hin (**Abb. 4.35**).

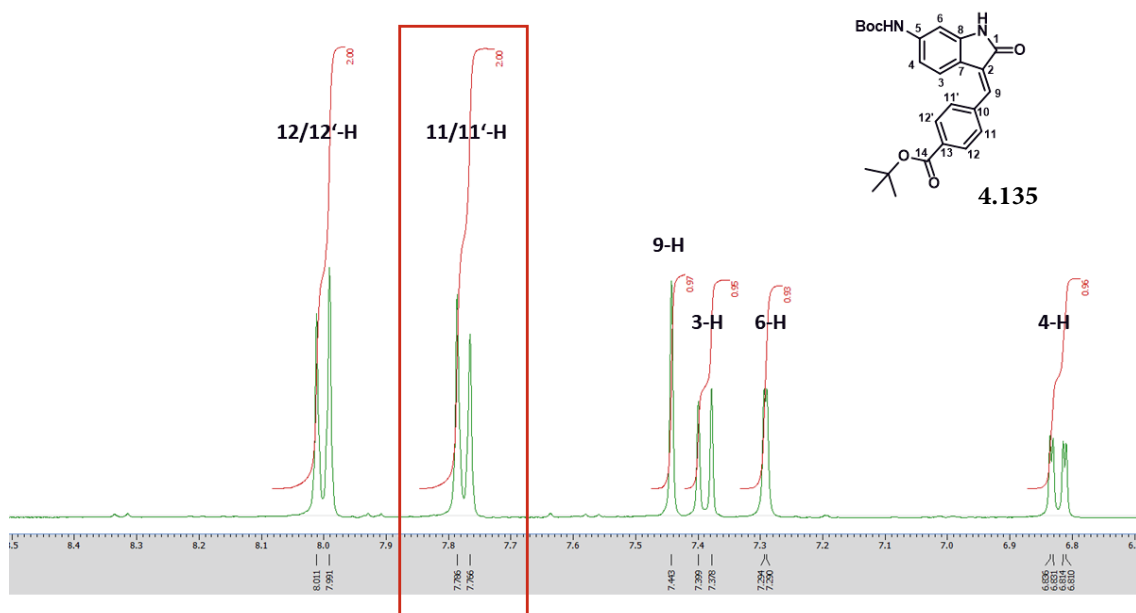


Abb. 4.35: Ausschnitt aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Verbindung **4.135**. Aufgrund der Lage des Signals für 11/11'-H bei 7.78 ppm kann auf eine *E*-Konfiguration des Produktes geschlossen werden.

4.10.2 Testung der biologischen Aktivität

Die Testung der synthetisierten Verbindung wurde von Eurofins® durchgeführt. Es wurde die verbleibende Kinase-Aktivität bei 100 μM bestimmt (**Abb. 4.36**).

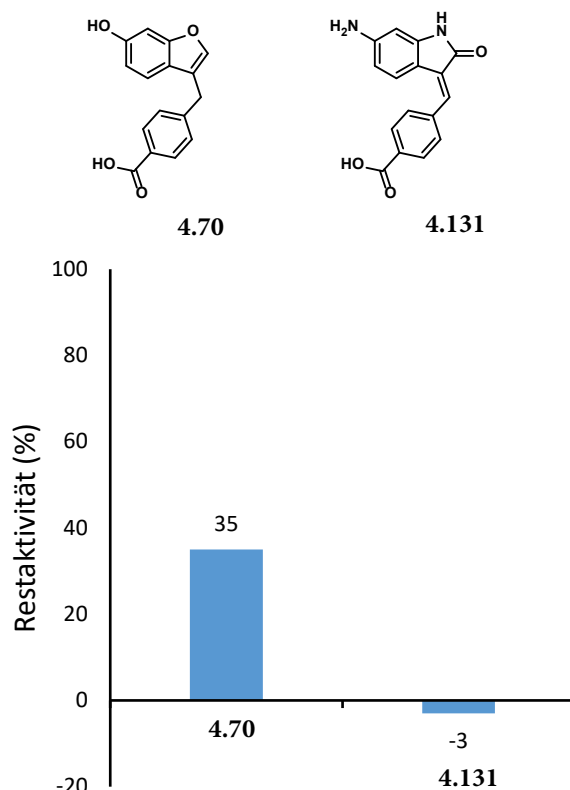


Abb. 4.36: Messung der Aktivität gegen die PIM1-Kinase. Aufgetragen ist die Restaktivität der Kinase bei einer Inhibitorkonzentration von 100 μM . Zu Vergleichszwecken ist Verbindung **4.70** mit aufgetragen.

Das neue Derivat mit Indolin-2-on-Grundgerüst zeigte eine deutlich verbesserte Aktivität verglichen mit der ursprünglichen Benzofuran-Verbindung. Die Bestimmung des IC_{50} -Wertes bei Eurofins® ergab mit 0.60 μM die höchste Affinität aller *bis dato* gemessenen Verbindungen. Damit stellte sie einen exzellenten Ausgangspunkt für die weitere Optimierung dar. Leider konnte bis zum Abschluss dieser Arbeit keine Kristallstruktur der Verbindung im Komplex mit der PIM1-Kinase bereitgestellt werden, sodass eine endgültige Aufklärung des Bindungsmodus nicht möglich war.

4.11 Indolin-2-one - Grundlegende erste SAR

Da für die Optimierung von Verbindung **4.131** nicht auf eine Kristallstruktur zurückgegriffen werden konnte, musste eine Liganden-basierte Weiterentwicklung erfolgen. Dafür sollte anhand einer SAR die Wichtigkeit der einzelnen Strukturmerkmale für die Gesamtaffinität überprüft werden (**Abb. 4.37**). Dazu gehörten die Amino-Gruppe (A), die Carbonsäure (B), das Lactam-NH (C) und die zentrale Doppelbindung (D).

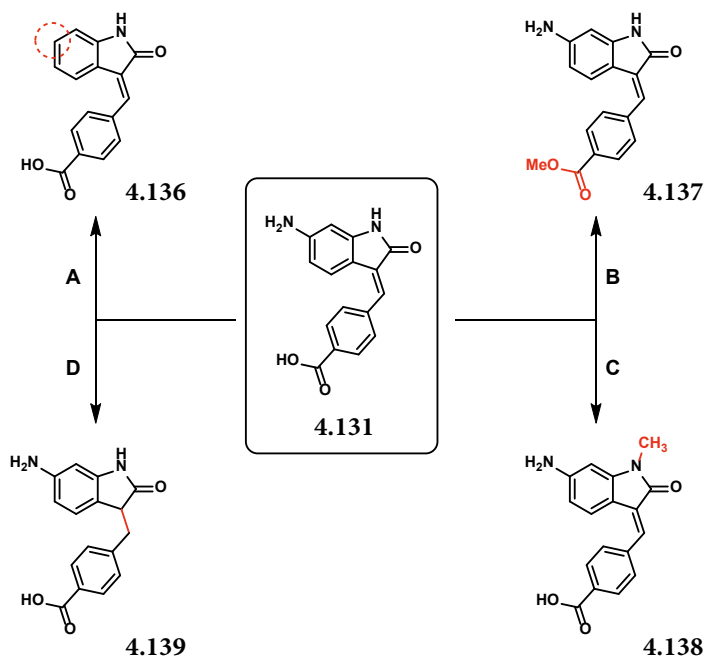
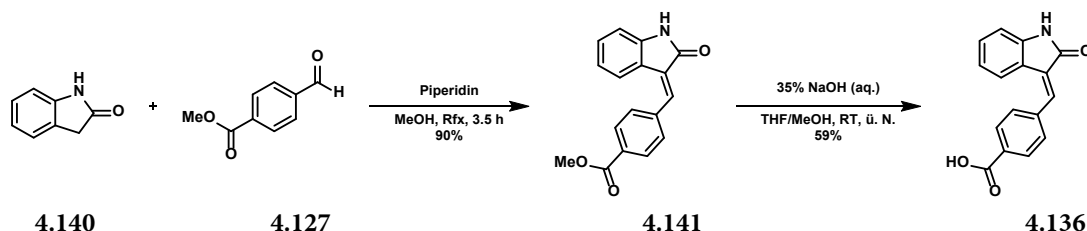


Abb. 4.37: SAR von Verbindung **4.131** zur Aufklärung der Bedeutung einzelner Strukturelemente. Dies umfasst die Amino-Gruppe (A), die Carbonsäure (B), das Lactam-NH (C) und die zentrale Doppelbindung (D).

Dies sollte gleichzeitig Rückschlüsse erlauben, welche strukturellen Veränderungen vom Benzofuran- zum Indolin-2-on-Derivat für die erhebliche Verbesserung der Affinität verantwortlich waren. Basierend auf den Ergebnissen sollte eine Optimierung der neuen Strukturklasse erfolgen. Zusätzlich wurde ein Derivat mit einer Nitro- anstatt der Amino-Gruppe synthetisiert. Dieses Substitutionsmuster war bereits bei den Stilbenen erprobt worden und hatte sich dort als durchaus geeignet erwiesen, eine Interaktion mit D128 zu vermitteln.

4.11.1 A - Aminogruppe (4.136)

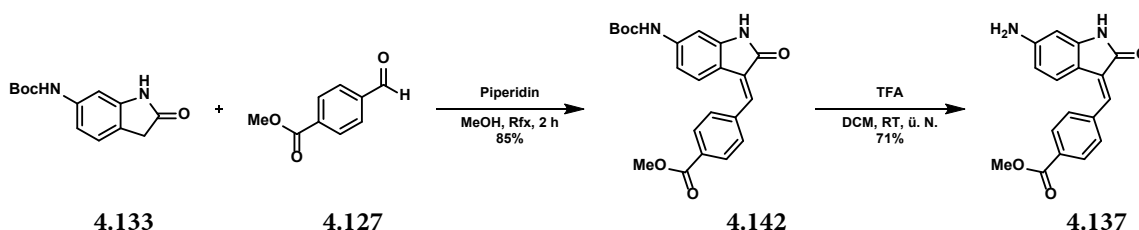
Für die Synthese des Derivates mit fehlender Aminogruppe wurde zunächst das unsubstituierte Indolin-2-on (4.140) mit Methyl-4-formylbenzoat (4.127) in einer Kondensation umgesetzt (Schema 4.51). Nach Spaltung des Esters wurde die Zielverbindung 4.136 als *E*-Isomer erhalten.



Schema 4.51: Synthese des Indolin-2-on-Derivates mit fehlender Aminogruppe.

4.11.2 B - Carboxylgruppe (4.137)

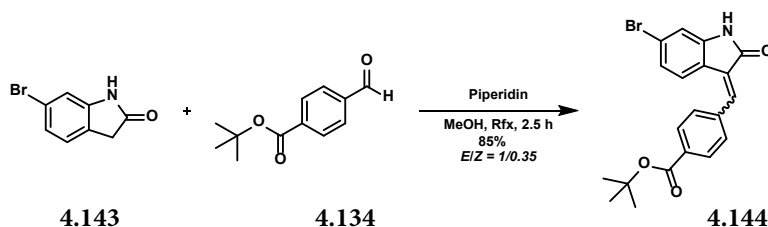
Die Darstellung des Methylester-Derivates startete mit der Kondensation des Boc-geschützten Indolin-2-on-Grundkörpers 4.133 und Aldehyd 4.127 (Schema 4.52). Anschließend wurde die Boc-Schutzgruppe abgespalten, sodass die fast ausschließlich *E*-konfigurierte Zielverbindung 4.137 erhalten wurde.



Schema 4.52: Synthese des Derivates mit Methylester statt freier Carbonsäurefunktionalität.

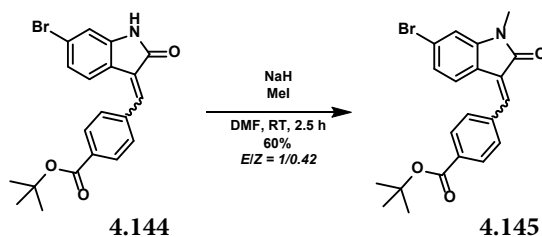
4.11.3 C - Lactam-NH (4.138)

Für die Synthese des Derivates mit methyliertem Lactam-Stickstoff wurde zunächst 6-Bromindolin-2-on (4.143) mit *tert*-Butyl-4-formylbenzoat (4.134) in einer Kondensation umgesetzt (Schema 4.53). Das Produkt 4.144 wurde dabei laut ¹H-NMR-Spektrum als *E/Z*-Gemisch im Verhältnis 1/0.35 erhalten.



Schema 4.53: Kondensation zum 6-Bromindolin-2-on-Vorläufer 4.144.

Um im nächsten Schritt das Lactam zu methylieren, wurde 4.144 zunächst mit NaH deprotoniert und anschließend mit MeI zu 4.145 (*E/Z* = 1/0.42) umgesetzt (Schema 4.54).



Schema 4.54: Methylierung des Lactams mit Methyljodid zu **4.145**.

Das Isomerenverhältnis wurde dabei wieder über die Signalverschiebung im ^1H -NMR-Spektrum festgestellt, allerdings musste die Probe kurzzeitig erhitzt werden, um die Substanz vollständig zu lösen. Für das ^1H -NMR-Spektrum von **4.145** zur Reaktionskontrolle wurde eine kleinere Probe der Substanz ohne zusätzliches Erwärmen gelöst, darin war ein deutlich geringerer Anteil des Z-Produktes enthalten (**Abb. 4.38**). Daher ist anzunehmen, dass die Verbindung tatsächlich nahezu vollständig *E*-konfiguriert vorlag und erst nach dem Lösen in DMSO isomerisierte.

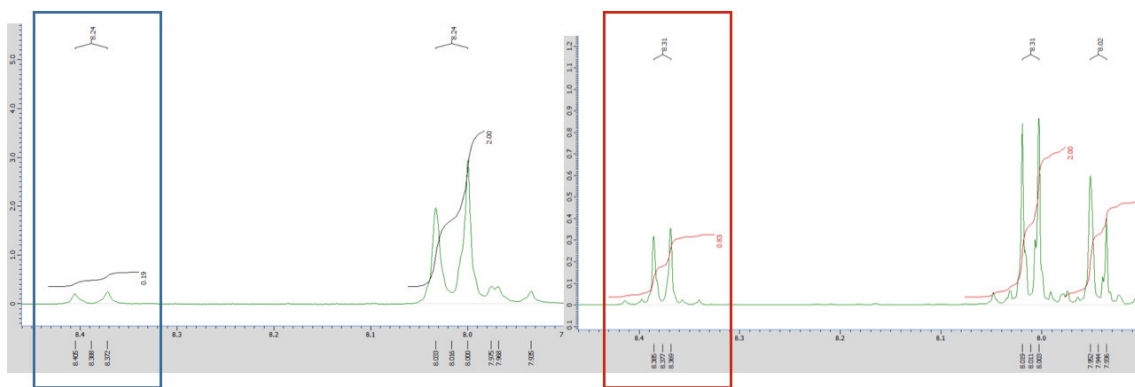
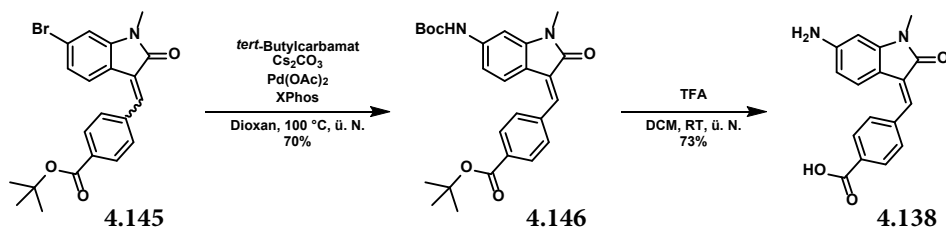


Abb. 4.38: Ausschnitt aus zwei ^1H -NMR-Spektren von **4.145**. Der Signalsatz für das Z-Isomer zeigt im Spektrum zur Reaktionskontrolle (blau) eine deutlich geringere Intensität als im Spektrum für die analytische Charakterisierung (rot).

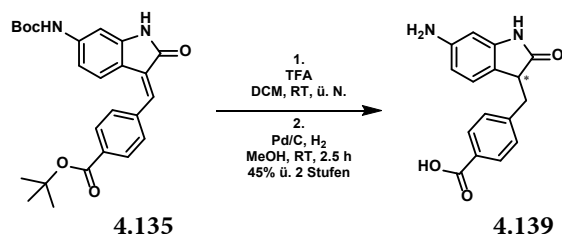
Danach erfolgte eine BUCHWALD-HARTWIG-Kupplung mit *tert*-Butylcarbammat zur nachträglichen Einführung der Amino-Gruppe (**Schema 4.55**). Dieses Vorgehen war notwendig, um eine unerwünschte Methylierung des Amins im vorhergehenden Schritt zu verhindern. Bei der Kupplung wurde wieder ausschließlich das *E*-Produkt **4.146** erhalten. Anschließend wurden die beiden Schutzgruppen simultan mit TFA abgespalten, sodass das Zielprodukt **4.138** als *E*-Produkt erhalten wurde.



Schema 4.55: Einführung der geschützten Amino-Gruppe mittels BUCHWALD-HARTWIG-Kupplung und anschließende Abspaltung der Schutzgruppen zur Zielverbindung **4.138**.

4.11.4 D - Doppelbindung (4.139)

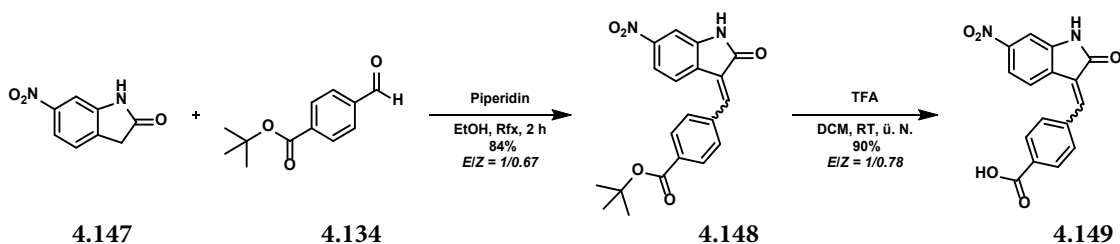
Zur Darstellung des Derivates mit hydrierter Doppelbindung wurde die geschützte Vorstufe **4.135** der ursprünglichen Indolin-2-on-Zielverbindung mit TFA entschützt und ohne weitere Aufreinigung zum gewünschten Derivat **4.139** katalytisch hydriert (**Schema 4.56**).



Schema 4.56: Umsetzung von **4.135** zur Zielverbindung **4.139** durch Abspaltung der Schutzgruppen und Reduktion der Doppelbindung.

4.11.5 Nitro-Derivat

Der Vorläufer **4.148** des Nitro-Derivates wurde zunächst durch eine Kondensation von 6-Nitroindolin-2-on (**4.147**) und Aldehyd **4.134** hergestellt ($E/Z = 1/0.67$) (**Schema 4.57**). Durch anschließende Spaltung des Esters mit TFA wurde die Zielverbindung **4.149** als E/Z -Gemisch (1/0.78) erhalten. Aufgrund der Unterschiede im Isomerenverhältnis der verschiedenen Kondensationsprodukte war anzunehmen, dass das Substitutionsmuster des Indolin-2-on-Eduktes dieses Verhältnis mit beeinflusst. Auch die Ergebnisse der Arbeiten von SUN *et al.* deuten darauf hin, jedoch wurde ein solcher Effekt bisher nicht systematisch untersucht.



Schema 4.57: Synthese des Nitro-Derivates **4.149**.

4.11.6 Testung der biologischen Aktivität

Die Testung der synthetisierten Verbindung wurde von Eurofins® durchgeführt. Es wurde die verbleibende Kinase-Aktivität bei 100 μ M bestimmt (**Abb. 4.39**).

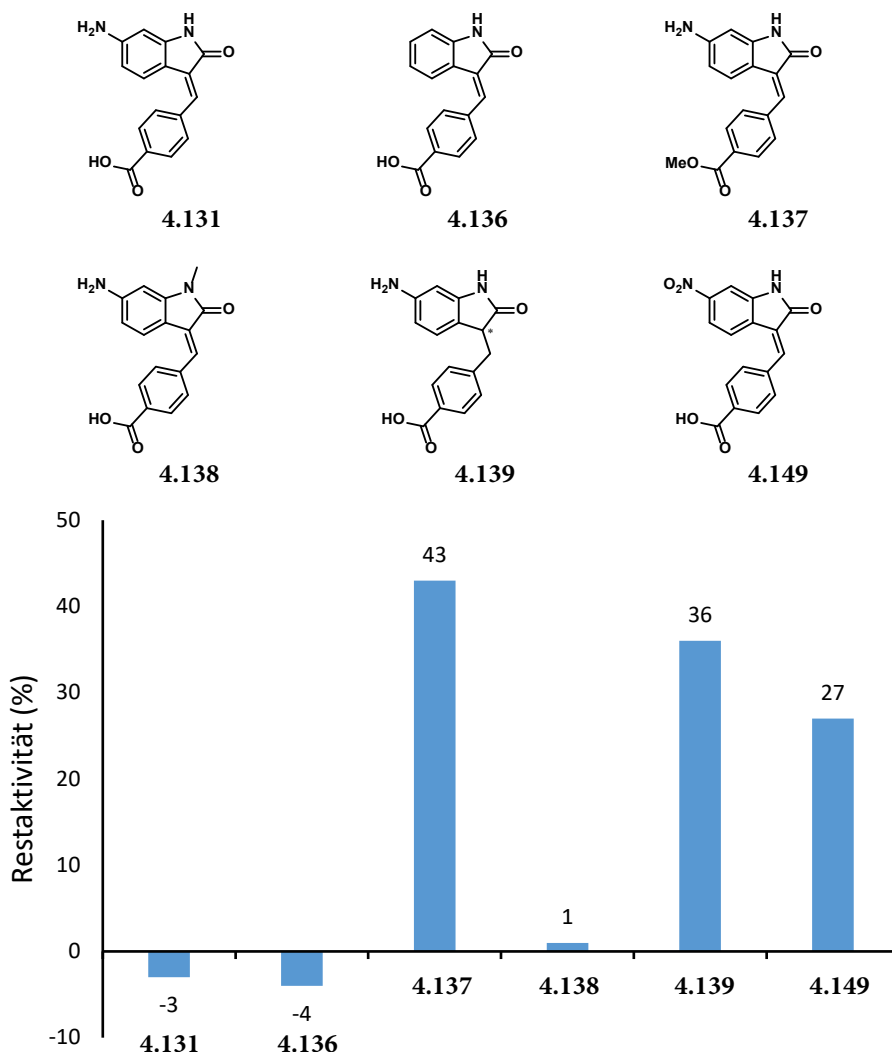
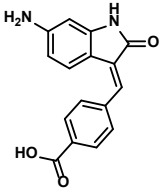
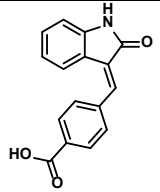
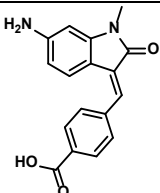


Abb. 4.39: Messung der Aktivität gegen die PIM1-Kinase. Aufgetragen ist die Restaktivität der Kinase bei einer Inhibitor-Konzentration von 100 μ M. Zu Vergleichszwecken ist Verbindung **4.131** mit aufgetragen.

Die Auswertung der Messungen ergab, dass die Derivate ohne Amino-Gruppe (**4.136**) sowie mit methyliertem Lactam-NH (**4.138**) eine ähnlich starke Aktivität wie die Ursprungsverbindung aufwiesen. Da in allen Fällen die Kinase quasi vollständig gehemmt wurde, konnten die Verbindungen aufgrund der Nivellierung nicht anhand dieser Werte verglichen werden. Für eine bessere Vergleichbarkeit wurden für die beiden neuen Derivate ebenfalls die IC_{50} -Werte bestimmt (**Tab. 4.3**). Die Derivate mit Methylester anstatt der Carbonsäure (**4.137**) und reduzierter Doppelbindung (**4.139**) zeigten eine deutlich reduzierte Aktivität verglichen mit der Ursprungsverbindung. Diese Strukturelemente mussten demnach als kritisch für die Affinität eingeordnet werden und sollten im Zuge der weiteren Optimierung nicht leichtfertig verändert werden. Das Nitro-Derivat **4.149** hemmte die Aktivität der Kinase ebenfalls deutlich schwächer als die Ursprungsverbindung. Dies war

bemerkenswert, da ein Fehlen der Aminogruppe anscheinend einen geringeren Aktivitätsverlust bewirkte, obwohl die Nitrogruppe bei den Stilbenen als zumindest leidlich geeigneter Substituent für die Interaktion mit D128 identifiziert wurde. Eine Erklärung für diesen Zusammenhang könnte in den unterschiedlichen Isomerenverhältnissen der Produkte liegen. Das Nitro-Derivat lag als Isomerengemisch ($E/Z = 1/0.78$) vor, während Verbindung **4.136** ausschließlich als *E*-Isomer erhalten wurde. Da die *E*-Konfiguration der im *docking* vorhergesagten Pose entsprechen würde, könnte das *Z*-Isomer einen faktisch wirkungslosen Anteil der Substanz darstellen. Ferner wäre es möglich, dass durch den elektronenziehenden Effekt der Nitrogruppe die Elektronenverteilung im konjugierten System verändert wird, was andere Molekülteile in ihrem Interaktionspotential beeinträchtigt könnte.

Tab. 4.3: Übersicht über die gemessene Aktivität (inkl. IC_{50} -Wert) der aktivsten Indolin-2-on-Derivate.

Verbindung	Struktur	Konfiguration	Restaktivität bei 100 μM [%]	IC_{50}
4.131		<i>E</i>	-3	0.60 μM
4.136		<i>E</i>	-4	2.74 μM
4.138		<i>E</i>	1	3.08 μM

Anhand der IC_{50} -Werte war zu erkennen, dass sowohl die fehlende Aminogruppe von **4.136**, als auch die Methylierung des Stickstoffs in **4.138** die Aktivität der jeweiligen Derivate tatsächlich reduziert. Im Falle von Verbindung **4.136** war dies bei Zutreffen des postulierten Bindungsmodus mit dem Verlust der Interaktion zwischen der Aminogruppe und D128 zu erklären. Diese war jedoch im Rahmen der Untersuchungen an den Stilbenen als essentiell für die Bindung eingestuft worden, daher lag der Schluss nahe, dass durch die Lactam-Struktur ebenfalls Interaktionen vermittelt wurden, die im Bindungsmodus der Benzofuran-Verbindungen noch nicht berücksichtigt waren. Das Derivat mit methyliertem Stickstoff (**4.138**) zeigte einen sehr ähnlichen IC_{50} -Wert wie Verbindung **4.136**, was darauf hindeutet, dass durch die Alkylierung tatsächlich die Interaktion mit dem Protein gestört

wurde. Dies könnte durch die Eliminierung einer möglichen Wechselwirkung des H-Atoms am Lactam geschehen, aber auch eine stärkere sterische Hinderung könnte der Grund für die Beeinträchtigung der Aktivität sein. Durch die Betrachtung der Kristallstruktur eines Vertreters dieser Substanzklasse im Komplex mit PIM1 sollten weitere Erkenntnisse über die zugrundeliegenden Interaktionsmuster gewonnen werden, um eine gerichtete Modifikation der Strukturklasse zur Verbesserung der Affinität anstreben zu können.

4.11.7 Proteinkristallstruktur mit 4.136

Alle in diesem Kapitel diskutierten Proteinkristallstrukturen gehen auf PHIL HOCHBAN (AG DIEDERICH, Philipps-Universität Marburg) zurück. Die Diskussion der jeweiligen Bindungsmodi erfolgte in dieser Arbeit nur in einem Maße, wie es für die Nachvollziehbarkeit der weiteren Synthesen erforderlich ist. Für genauere Informationen zur Expression, Kristallisation und Röntgenstrukturanalyse sowie einer ausführlichen Diskussion der Bindungsmodi sei auf seine Dissertationsschrift verwiesen.

Exemplarisch für die Verbindungsklasse der Indolin-2-one wurde Verbindung **4.136** im Komplex mit der PIM1-Kinase kristallisiert (**Abb. 4.40**). Dies gelang jedoch erst im Anschluss an die erläuterten Versuche, weshalb die Erkenntnisse aus der Kristallstruktur in die bisherige Entwicklung der Substanzklasse nicht einfließen konnten.

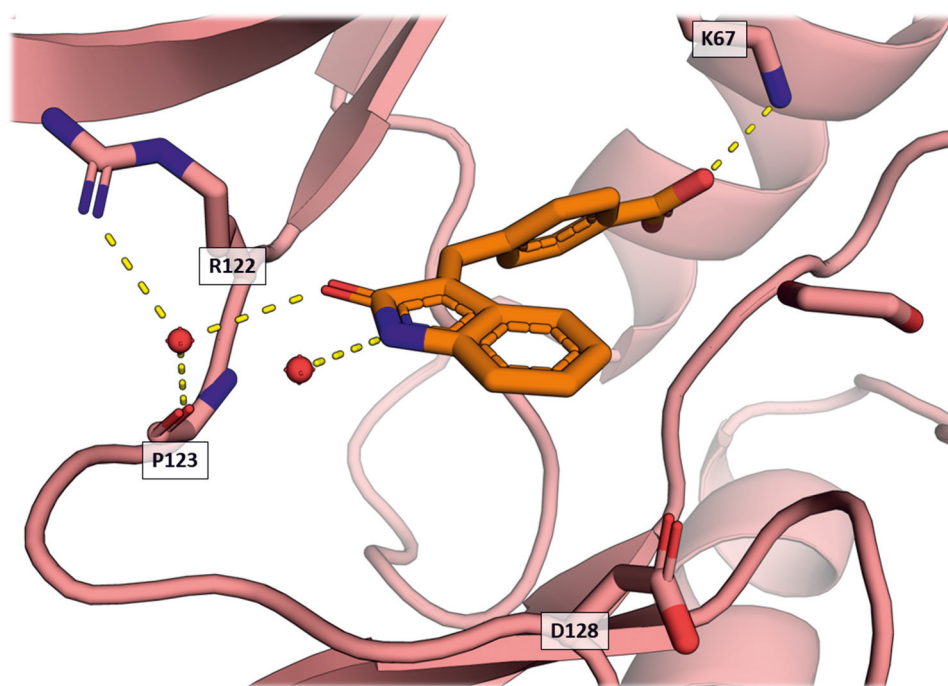


Abb. 4.40: Kristallstruktur von Verbindung **4.136** im Komplex mit PIM1.

In der Kristallstruktur von Verbindung **4.136** im Komplex mit PIM1 wird sichtbar, dass die bei den Indolin-2-onen neu eingeführte Lactam-Struktur tatsächlich an der Ausbildung von Interaktionen beteiligt ist. Sowohl über den Carbonyl-Sauerstoff als auch den endozyklischen Stickstoff werden H-Brücken zu zwei Wassermolekülen im Bereich der *hinge*-Region gebildet. Zudem ist das Indolinon-Grundgerüst so positioniert, dass die Amino-Gruppe von **4.131** eine Wechselwirkung mit D128 eingehen können sollte. Damit lässt sich erklären, warum diese Verbindung von allen Derivaten die stärkste Aktivität aufweist.

Anhand dieser Kristallstruktur können auch die Messergebnisse der IC_{50} -Werte besser eingeordnet werden. Ein Methylester anstatt der Carbonsäurefunktion unterdrückt die ladungsgestützte H-Brücke zu K67, was den enormen Affinitätsverlust dieser Modifikation erklärt. Die Methylierung des Lactams stört vermutlich die H-Brücke des Stickstoffs zu dem Wassermolekül, möglicherweise wird dieses sogar durch die Methylgruppe verdrängt. Durch den Verlust der Interaktion müssten dabei Affinitätseinbußen erwartet werden, die Verdrängung eines geordneten Wassermoleküls wäre jedoch

als entropisch günstig einzuordnen und könnte den Aktivitätsverlust zu einem gewissen Teil kompensieren. Insofern stellt diese Position im Molekül einen interessanten Ansatzpunkt für weitere Variationen dar.

Ferner ist der beobachtete Bindungsmodus ausschließlich mit dem *E*-konfigurierten Produkt möglich. Diese Tatsache unterstreicht, dass der zentralen Doppelbindung und ihrer Konfiguration erhebliche Bedeutung zukommen. Die selektive Darstellung entsprechend konfigurierter Verbindungen ist daher für die Synthese weiterer Vertreter dieser Verbindungsklasse essentiell, da nur in diesem Falle eine rationale Korrelation mit den Assayergebnissen der bereits synthetisierten Derivate möglich ist.

4.12 Indolin-2-one - Fazit

Im Rahmen dieser Arbeit konnte die Strukturklasse der Indolin-2-one als vielversprechender Ansatzpunkt für die Entwicklung von PIM1-Inhibitoren identifiziert werden. Das Derivat **4.131** wies mit einem IC_{50} -Wert von $0.60\ \mu M$ projektübergreifend unter allen untersuchten Verbindungen die höchste Affinität auf (**Abb. 4.41**).

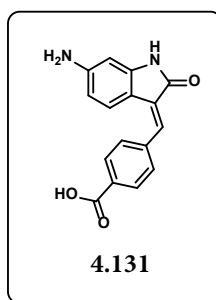


Abb. 4.41: Das Indolin-2-on **4.131** stellte mit einem IC_{50} -Wert von $0.60\ \mu M$ die aktivste aller untersuchten Verbindungen dar.

Im Rahmen einer ersten SAR konnten bereits erste Erkenntnisse über die Bedeutung der einzelnen Strukturelemente gewonnen werden, die schlussendliche Lösung der Kristallstruktur eines Derivates im Komplex mit der PIM1-Kinase ermöglicht nunmehr die strukturbasierte Optimierung dieser Substanzklasse.

Aus den Ergebnissen der SAR geht hervor, dass die Carboxyl-Gruppe und die zentrale Doppelbindung eine essentielle Bedeutung für die biologische Aktivität haben. Die Carbonsäure bildet eine ladungsgestützte H-Brücke zu K67, was in erheblichem Maße zur Affinität beiträgt. Trotzdem wäre es denkbar, an dieser Stelle andere Strukturelemente zu installieren, die eine Ausdehnung der Struktur bis in den Bereich der hydrophoben Bindetasche erlauben. In Kapitel 1 wurde bereits erläutert, dass eine strukturell sehr diverse Auswahl an Verbindungen diese Interaktion ausbildet, insofern sollte eine Variation dieses Strukturelementes nicht grundsätzlich ausgeschlossen werden. Um die hydrophobe Tasche zu adressieren, könnte z. B. die Eignung von Sulfonamiden oder Phosphonsäureestern überprüft werden (**Abb. 4.42**). Letztere hätten dabei den Vorteil, dass die ladungsgestützte Interaktion zu K67 trotzdem erhalten bleiben könnte.

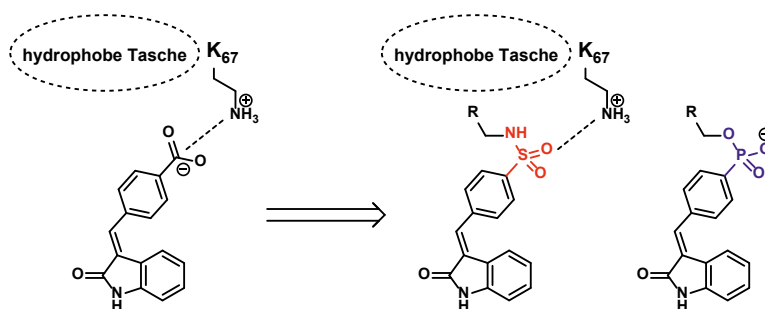


Abb. 4.42: Durch den Austausch der Carboxyl- gegen eine Sulfonamid- oder Phosphonsäureester-Funktion könnten Reste zur Adressierung der hydrophoben Tasche angebracht werden.

Weiterhin könnte eine Optimierung der Interaktion mit D128 angestrebt werden. Dazu sollten systematisch basische Gruppen in 6-Position installiert werden, um das günstigste Substitutionsmuster in dieser Position zu finden (**Abb. 4.43**).

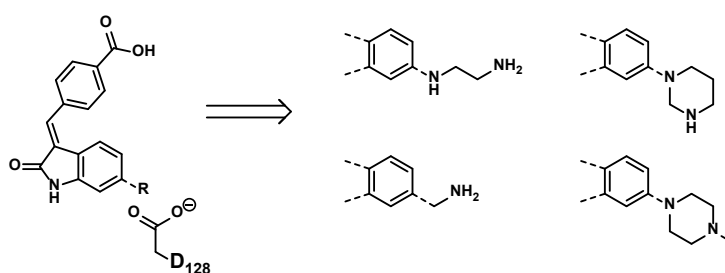


Abb. 4.43: Mögliche Variationen des Substituenten in 6-Position zur Optimierung der Wechselwirkung mit D128.

Ferner konnte anhand der Proteinkristallstruktur mit Verbindung **4.136** nachgewiesen werden, dass das Lactam-NH durch Ausbildung einer H-Brücke einen Beitrag zur Gesamtaffinität leistet. Eine Substitution an dieser Position geht jedoch vermutlich mit der entropisch günstigen Verdrängung geordnete Wassermoleküle einher, dementsprechend könnte der Effekt von verschiedenen Substituenten in dieser Position systematisch evaluiert werden (**Abb. 4.44**). Da ein solcher Substituent prinzipiell aus der Bindetasche heraus in Richtung des umgebenden Lösungsmittels orientiert wäre, müsste bei zu großen und/oder unpolaren Resten jedoch auch eine weitere Beeinträchtigung der Affinität in Betracht gezogen werden.

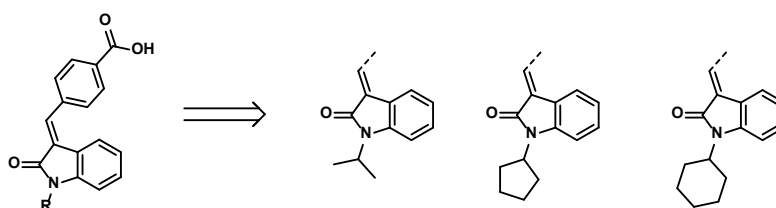


Abb. 4.44: Mögliche Variationen des Substituenten am Lactam-Stickstoff.

Insgesamt bieten sich auch bei dieser Strukturklasse viele Möglichkeiten für eine systematische Verbesserung. Durch die Studien zur Synthese im Rahmen der SAR stehen zudem etablierte Möglichkeiten für die zuverlässige Darstellung entsprechender Derivate bereit. Auf Grundlage der im Rahmen dieser Dissertation geleisteten Vorarbeiten sollte es daher möglich sein, die Affinität der Strukturklasse in Folgearbeiten weiter zu optimieren. Dafür könnten chemo-informatische Methoden genutzt werden, aber auch rationale Ansätze des strukturbasierten Wirkstoffdesigns.

5 EXPERIMENTELLER TEIL

5.1 Allgemeiner Teil

5.1.1 Proteinkristallstrukturen

Alle Proteinkristallstrukturen mit den neu synthetisierten Liganden wurden von PHIL HOCHBAN (AG DIEDERICH) bestimmt. Für Details zur Proteingewinnung und Kristallisation sowie Strukturlösung sei daher auf die entsprechende Dissertationsschrift verwiesen.

5.1.2 Biologische Testung

Die Messungen zur biologischen Aktivität wurden als Auftragsmessung von *Eurofins* im Rahmen des *KinaseProfiler*[®]-Programms mit einem radiometrischen Assay durchgeführt. Alle Messwerte wurden als Duplikate gemessen, angegeben ist der jeweilige Mittelwert. Die Messungen wurden bei einer ATP-Konzentration von 90 μM durchgeführt, die Bestimmung der IC_{50} -Kurven erfolgte durch die Messung von 9 Konzentrationen.

5.1.3 Allgemeine Arbeitsweise

Alle Reaktionen, welche feuchtigkeits- oder sauerstoffempfindliche Reagenzien beinhalteten, wurden in ausgeheizten Glasapparaturen unter Schutzgasatmosphäre (Argon N50, *Air Liquide*) durchgeführt. Kommerziell verfügbare Lösungsmittel und Reagenzien wurden, sofern nicht anders vermerkt, ohne weitere Aufreinigung verwendet.

5.1.4 Mikrowellenreaktionen

Alle Reaktionen unter Anwendung von Mikrowellenstrahlung wurden in dafür vorgesehenen drucksicheren Glasreaktoren durchgeführt.

Mikrowellenreaktor: Discover (*CEM*)

Autosampler: Explorer (*CEM*)

5.1.5 Kugelrohrdestillation

Reinigungsprozeduren mit einer Kugelrohr-Destillationsapparatur wurden im Abzug durchgeführt. Die Kühlung erfolgte wahlweise mit Eis oder Trockeneis.

Pumpe: Vacuum System MZ 2C NT+AK+EK (*Vacuubrand*)

Heizofen: Glass Oven B-585 (*Büchi*)

5.1.6 Hochvakuum

Die Trocknung der Syntheseprodukte erfolgte unter vermindertem Druck in einem Hochvakuum-System, wahlweise bei erhöhter Temperatur. Die Trocknungszeit variierte von wenigen Stunden bis hin zu mehreren Tagen.

Pumpe: Chemistry Hybrid Pump RC 6 (*Vakuubrand*)

Manometer: VAP 5 (*Vakuubrand*)

Ofen: Glass Oven B-585 (*Büchi*)

5.2 Analytik

5.2.1 DC und *flash*-Chromatographie

DC-Platten: 60 F254 (*Merck*)

Kieselgel: 60 (0.063 - 0.04 nm; *Macherey-Nagel*)

5.2.2 MPLC

Im Rahmen der Reinigung mittels MPLC kamen zwei Systeme zur Anwendung. Als Trennsäulen wurden vorgepackte Kartuschen verschiedener Größe von unterschiedlichen Herstellern eingesetzt.

MPLC 1: Reveleris X2 (*Grace*, heute *Büchi*)

MPLC 2: Pumpenmodul C-601 (x2), Pumpmanager C-615, UV-Detektor C-630, Fraktionskollektor C-660 (Alle *Büchi*)

Kartuschen: FlashPure (*Büchi*), PuriFlash (*Interchim*).

5.2.3 Präparative HPLC

HPLC: Pure C-850 FlashPrep (*Büchi*)

HPLC-Säule: PrepPure, C18, 100 Å, 10 µM, 250 mm x 20 mm (*Büchi*)

Wenn nicht anders angegeben, wurde zur Reinigung mit der Präparativen HPLC das Standard-Programm (5-95% MeCN in H₂O über 1 h) benutzt. Die Eluenten wurden ohne den weiteren Zusatz von Säuren oder Basen verwendet.

5.2.4 HPLC-MS-System

HPLC: 1260 Infinity (*Agilent*)

HPLC-Säule: Poroshell 120, EC-C18, 2.7 µM, 4.6 mm x 50 mm (*Agilent*)

MS: Expression S CMS (*Advion*)

5.2.5 Kernmagnetresonanzspektroskopie (NMR)

Für die Auswertung der Spektren wurde die Software Delta 5.2.1 (JEOL) verwendet. Die angegebenen chemischen Verschiebungen (in ppm) wurden auf das Signal des jeweils verwendeten Lösungsmittels bezogen. Die Nummerierung der Verbindungen orientierte sich zur besseren Vergleichbarkeit an der Synthesesequenz, dabei wurde ggf. von der gängigen Konvention abgewichen. Die jeweilige Nummerierung der Atome ist für alle Verbindungen in den entsprechenden Synthesevorschriften angegeben.

Verwendete Referenzwerte (^1H / ^{13}C)¹⁸²:

CDCl_3 : 7.26 / 77.16

$\text{DMSO}-d_6$: 2.50 / 39.52

CD_3OD : 3.31 / 49.00

Für die Angabe der Spinmultiplizitäten wurden folgende Abkürzungen verwendet:

s = Singulett, d = Duplett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multiplett, (b) = breites Signal, sm = Symmetrisches Multiplett, dd = Duplett vom Dublett, dt = Duplett vom Triplett

Verwendete Spektrometer:

Fachbereich Chemie:

250 MHz: AV III HD 250 MHz (Bruker)

300 MHz: AV III 300 MHz (Bruker)

Fachbereich Pharmazie:

400 MHz: ECX400 (JEOL)

500 MHz: ECA500 (JEOL)

5.2.6 Hochauflösende Massenspektrometrie:

Die Messungen wurden in der Analytikabteilung für Massenspektrometrie und Elementaranalytik des Fachbereich Chemie durchgeführt.

EI: AccuTOF-GCv (JEOL)

ESI: LTQ-FT (Thermo Fisher Scientific)

5.2.7 Elementaranalytik:

Die Messungen wurden in der Analytikabteilung für Massenspektrometrie und Elementaranalytik des Fachbereich Chemie durchgeführt.

EA: CHN(S)-Analysator vario MICRO CUBE (Elementar)

5.2.8 Schmelzpunktbestimmung:

Die Schmelzpunktbestimmung erfolgte am Platz. Alle Schmelzpunkte wurden unkorrigiert angegeben.

Geräte: MPM-M2 (*Schorpp*), M 5000 (*Krüss*)

6. SYNTHESE

6.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)

6.1.1 AAV_1_Boc-Schützung

Zu einer Lösung des entsprechenden Amins (1.00 äq) in H₂O/THF (1:1, 2 mL/mmol) wurden NaHCO₃ (2.00 äq) und Boc₂O (1.20 äq) gegeben und der Ansatz über Nacht bei RT gerührt. Nach vollständigem Umsatz (laut DC) wurde das Reaktionsgemisch in H₂O aufgenommen und mit EtOAc extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit Brine gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde nach der jeweils angegebenen Methode gereinigt.

6.1.2 AAV_2_Borylierung

In einem ausgeheizten Kolben wurden das entsprechende Arylhalogenid (1.00 äq) und Bis(pinacolato)diboron (1.00 äq) vorgelegt und der Kolben für 15 min evakuiert. Daraufhin wurden wasserfreies KOAc (2.00 äq), [Pd(dppf)Cl₂] (10 mol%) und entgastes Dioxan (5 mL/mmol) zugegeben und erneut für 15 min evakuiert. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch über Nacht bei 100 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf RT wurde der Ansatz in H₂O aufgenommen, mit EtOAc extrahiert und die vereinigte organische Phase mit Brine gewaschen sowie über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt nach der angegebenen Methode gereinigt.

6.1.3 AAV_3_SUZUKI-Kupplung

Das Arylhalogenid (1.00 äq), das entsprechende Boronsäure-Derivat (1.20 äq), Na₂CO₃ (2.00 äq) und Tetrakis (5 mol%) wurden in DME/H₂O (2:1, 11.5 mL/mmol) dispergiert und das Reaktionsgemisch durch Anlegen von Vakuum und anschließendes Rückspülen mit Argon (3 x) entgast. Anschließend wurde der Ansatz bei 120 °C/150 W für 3 h in der Mikrowelle gerührt. Nach dem Abkühlen wurde die Reaktionslösung in H₂O aufgenommen und mit EtOAc extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit Brine gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde nach der jeweils angegebenen Methode gereinigt.

6.1.4 AAV_4_SUZUKI-Kupplung

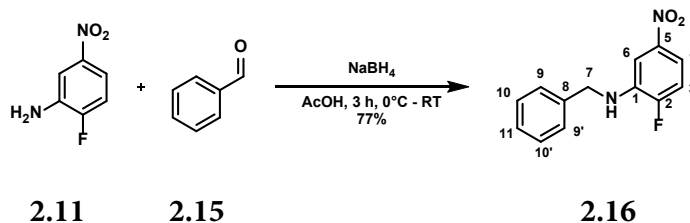
Das Arylhalogenid (1.00 äq), das entsprechende Boronsäure-Derivat (1.20 äq), Na_2CO_3 (2.50 äq) und $[\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2] \times \text{DCM}$ (5 mol%) wurden in DME/ H_2O (2:1, 11.5 mL/mmol) dispergiert und das Reaktionsgemisch für 10 min mit Argon gespült. Anschließend wurde der Ansatz bei 150 °C/300 W für 1 h in der Mikrowelle gerührt. Nach dem Abkühlen wurde die Reaktionslösung in H_2O aufgenommen und mit EtOAc extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit Brine gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde nach der jeweils angegebenen Methode gereinigt.

6.1.5 AAV_5_Boc-Entschützung

Eine Lösung des Boc-geschützten Amins (1.00 äq) in DCM (10.0 mL/mmol) wurde mit TFA (10.0 äq) versetzt und über Nacht bei RT gerührt. Nach vollständigem Umsatz des Eduktes wurde der Ansatz mit H_2O und sat. NaHCO_3 versetzt und stark gerührt (10 min), anschließend wurde das organische Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die wässrige Lösung des Rohproduktes wurde nach der jeweils angegebenen Methode gereinigt.

6.2 Einzelsynthesen - Kapitel 2

6.2.1 Verbindung 2.16

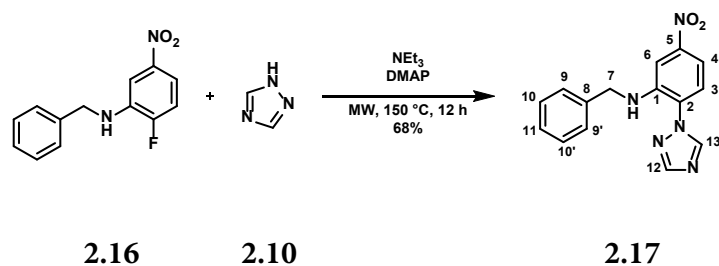


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2-Fluor-5-nitroanilin	1.00	20.0	3.12	156.12		
Benzaldehyd	1.20	24.0	2.55	106.12	1.05	2.4
NaBH ₄	2.00	40.0	1.51	37.83		
AcOH			1.4 mL/mmol			28

2-Fluor-5-Nitroanilin (**2.11**, 3.12 g, 20.00 mmol, 1.00 äq.) wurde in 20 mL AcOH gelöst und Benzaldehyd (**2.15**, 2.4 mL, 24.0 mmol, 1.20 äq.) hinzugegeben. Die Lösung wurde ca. 12 h bei Raumtemperatur vorgerührt und anschließend auf 0 °C gekühlt, wobei sich viel beigefarbener Niederschlag bildete. Die entstandene Suspension wurde mit weiteren 8 mL AcOH verdünnt und anschließend langsam NaBH₄ (1.51 g, 40.0 mmol, 2.00 äq) zugegeben. Nach vollständiger Zugabe wurde die Lösung für 50 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit 80 mL H₂O verdünnt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und der Filterkuchen mit H₂O gewaschen. Nach Trocknen am Hochvakuum wurden 3.80 g (15.4 mmol, 77%) des Produktes **2.16** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 7.54 - 7.12 (m, 8 H, H _{arom.}), 6.96 (t, ³ J = 5.7 Hz, 1H, 1-NH), 4.44 (d, ³ J = 6.0 Hz, 2H, 7-H ₂).
¹³C-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 154.2 (d, ¹ J _{C,F} = 249.5 Hz, C2), 144.6 (C5), 138.7 (C8), 137.4 (d, ² J _{C,F} = 13.2 Hz, C1), 128.4 (2C, C9/C9'), 126.9 (C11), 126.9 (2C, C10/10'), 114.9 (d, ² J _{C,F} = 21.6 Hz, C3), 111.1 (d, ³ J _{C,F} = 8.4 Hz, C6), 106.0 (d, ³ J _{C,F} = 7.2 Hz, C4), 45.6 (C7).
HR-MS:	Für C ₁₃ H ₁₁ FN ₂ O ₂ H (M+H) ⁺ ber.: 247.0877 gef.: 247.0877
EA:	Für C ₁₃ H ₁₁ FN ₂ O ₂ ber./gef. (%) N: 11.38 / 11.38 C: 63.41 / 63.50 H: 4.50 / 4.49
Smp.	94.0 °C

6.2.2 Verbindung 2.17

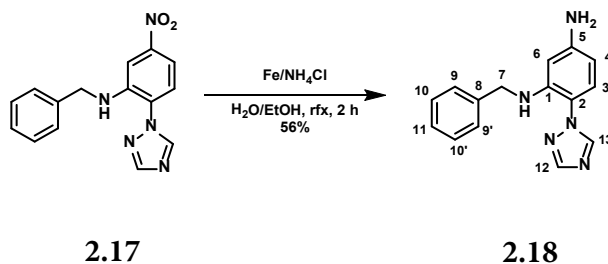


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2.16	1.00	5.00	1.23	246.24		
1H-1,2,4-Triazol	4.00	20.0	1.38	69.02		
Triethylamin	4.00	20.0	2.02	101.19	0.73	2.8
DMAP	0.20	1.00	0.12	122.17		
MeCN			2 mL/mmol			10

2.16 (1.23 g, 5.00 mmol, 1.00 äq) wurde in MeCN (10 mL) gelöst und 1H-1,2,4-Triazol (**2.10**, 1.38 g, 20.0 mmol, 4.00 äq), Triethylamin (2.8 mL, 20.0 mmol, 4.00 äq) sowie DMAP (0.12 g, 1.00 mmol, 0.20 äq) der Lösung hinzugefügt. Der Ansatz wurde für 12 h in der Mikrowelle (150 °C, 300 W) gerührt, in EtOAc aufgenommen und danach am Rotationsverdampfer eingeeengt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (CH/EtOAc 0-20% über 30 min) gereinigt, dabei wurden 1.01 g (2.41 mmol, 68%) des Produktes **2.17** als hellgelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 9.07 (s, 1H, 12-H), 8.39 (s, 1H, 13-H), 7.61 (d, ³ J = 8.6 Hz, 1H, 3-H), 7.50 (dd, ³ J = 8.6 Hz, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 4-H), 7.43 (d, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 6-H), 7.39 - 7.33 (m, 4H, 9/9'-H, 10/10'-H), 7.25 (dd, ³ J = 7.2, 6.9 Hz, 1H, 11-H), 6.93 (t, ³ J = 5.7 Hz, 1H, 1-NH), 4.49 (d, ³ J = 5.7 Hz, 2H, 7-H ₂).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 148.2 (C12), 145.3 (C5), 142.7 (2C, C1 + C13), 138.4 (C8), 128.5 (2C, C10/C10'), 127.0 (C11), 126.9 (2C, C9/C9'), 126.8 (C2), 126.3 (C3), 110.3 (C6), 106.0 (C4), 45.9 (C7).
HR-MS:	Für C ₁₅ H ₁₃ N ₅ O ₂ H (M+H) ⁺ ber.: 296.1142 gef.: 296.1144
EA:	Für C ₁₅ H ₁₃ N ₅ O ₂ ber./gef. (%) N: 23.72 / 23.54 C: 61.01 / 60.67 H: 4.44 / 4.42
Smp.	102.7 °C

6.2.3 Verbindung 2.18

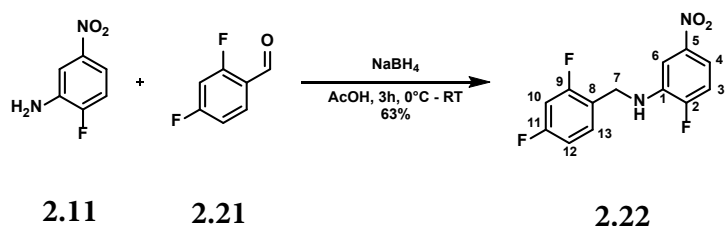


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2.17	1.00	1.69	0.50	295.30		
Eisenpulver	5.00	8.47	0.47	55.85		
NH ₄ Cl	0.53	0.90	0.05	53.49		
EtOH			0.84 mL/mmol			1.4
H ₂ O			2.5 mL/mmol			4.2

2.17 (0.50 g, 1.69 mmol, 1.00 äq) wurde in EtOH (1.4 mL) und H₂O (4.2 mL) gelöst, mit NH₄Cl (0.05 g, 0.90 mmol, 0.53 äq) und Eisenpulver (0.47 g, 8.47 mmol, 5.00 äq) versetzt und 2 h unter rfx gerührt. Anschließend wurde die Lösung mit MeOH (15 mL) verdünnt, über Celite filtriert und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der Rückstand wurde in H₂O (10 mL) aufgenommen und mit DCM (3 x 15 mL) extrahiert, die vereinigte organische Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0 – 10% MeOH in DCM über 25 min) gereinigt, dabei wurden 0.25 g (0.95 mmol, 56%) des Produktes **2.18** als gelbbrauner Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 8.70 (s, 1H, 12-H), 8.17 (s, 1H, 13-H), 7.35 - 7.28 (m, 4H, 9/9' + 10/10'), 7.25 - 7.20 (m, 1H, 11-H), 6.87 (d, ³ J = 8,0 Hz, 1H, 3-H), 5.96 - 5.88 (m, 2H, 4-H + 6-H), 5.59 (s (b), 1H, 1-NH), 5.32 (s (b), 2H, 5-NH ₂), 4.26 (s, 2H, 7-H ₂).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 151.8 (C12), 150.0 (C5), 144.8 (C1), 143.2 (C13), 139.7 (C8), 128.3 (2C, C10/10'), 126.8 (2C, C9/9'), 126.6 (C11), 126.5 (C3), 112.6 (C2), 102.1 (C6), 96.7 (C4), 45.9 (C7).
HR-MS:	Für C ₁₅ H ₁₅ N ₅ H (M+H) ⁺ ber.: 266.1400, gef.: 266.1394.
EA:	Für C ₁₅ H ₁₅ N ₅ ber./gef. (%): N: 26.40 / 26.13 C: 67.90 / 67.63 H: 5.70 / 5.94
Smp.	113.9 °C

6.2.4 Verbindung 2.22

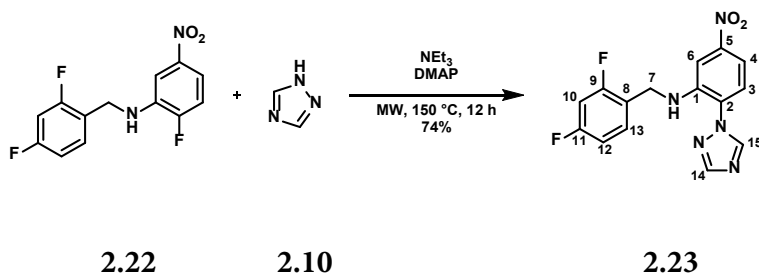


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2-Fluor-5-nitroanilin	1.00	10.0	1.56	156.12		
2,4-Difluor-benzaldehyd	1.20	12.0	1.71	142.10	1.3	1.3
NaBH ₄	2.00	20.0	0.76	37.83		
AcOH			1,5 mL/mmol			15

2-Fluor-5-Nitroanilin (**2.11**, 1.56 g, 10.00 mmol, 1.00 äq) wurde in 10 mL AcOH gelöst und 2,4-Difluorbenzaldehyd (**2.21**, 1.3 mL, 12.0 mmol, 1.20 äq) hinzugegeben. Die Lösung wurde 2.5 h bei RT vorgerührt, auf 0 °C gekühlt und nach Zugabe von weiteren 5 mL AcOH langsam mit NaBH₄ (0.76 g, 20.0 mmol, 2.00 äq) versetzt. Nach vollständiger Zugabe wurde die Lösung für 30 min bei RT gerührt und anschließend mit 40 mL H₂O verdünnt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und der Filterkuchen mit H₂O gewaschen. Nach Trocknen am Hochvakuum wurden 1.7 g (6.26 mmol, 63%) des Produktes **2.22** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K);</p> <p>δ (ppm) = 7.51 - 7.40 (m, 2H, 6-H/13-H), 7.38 (dd, ³J = 7.6 Hz, ⁴J = 2.9 Hz, 1H, 4-H), 7.31 (dd, ³J_{H,F} = 11.2 Hz, ³J = 8.9 Hz, 1H, 3-H), 7.25 (ddd, ³J_{H,F} = 10.6 Hz, 9.5 Hz, ⁴J = 2.6 Hz, 1H, 10-H), 7.05 (dddd, ³J = 8.5 Hz, ³J_{H,F} = 8.5 Hz, ⁴J = 2.6 Hz, ⁵J_{H,F} = 0.9 Hz, 1H, 12-H), 6.88 (dt, ³J = 6.0 Hz, ⁴J = 1.9 Hz, 1H, 1-NH), 4.44 (d, ³J = 6 Hz, 2H, 7-H₂).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K);</p> <p>δ (ppm) = 161.4 (dd, ¹J_{C,F} = 245.3 Hz, ³J_{C,F} = 12.0 Hz, C9), 160.2 (dd, ¹J_{C,F} = 247.1 Hz, ³J_{C,F} = 12.0 Hz, C11), 154.2 (d, ¹J_{C,F} = 249.5 Hz, C2), 144.7 (C5), 137.0 (d, ²J_{C,F} = 13.2 Hz, C1), 130.4 (dd, ³J_{C,F} = 9.6 Hz, ³J_{C,F} = 6.0 Hz, C13), 121.6 (dd, ²J_{C,F} = 15.6 Hz, ⁴J_{C,F} = 3.6 Hz, C8), 115.1 (d, ²J_{C,F} = 21.6 Hz, C3), 111.6 (d, ³J_{C,F} = 6.0 Hz, C6), 111.5 (dd, ²J_{C,F} = 19.2 Hz, ⁴J_{C,F} = 2.4 Hz, C12), 105.8 (d, ³J_{C,F} = 6.0 Hz, C4), 103.8 (dd, ²J_{C,F} = 16.4 Hz, ²J_{C,F} = 25.2 Hz, C10), 39.0 (C7).</p>
HR-MS:	<p>Für C₁₃H₉F₃N₂O₂H (M+H)⁺</p> <p>ber.: 283.0689</p> <p>gef.: 283.0690</p>
EA:	<p>Für C₁₃H₉F₃N₂O₂ x 0.25 H₂O ber./gef. (%)</p> <p>N: 9.77 / 9.92</p> <p>C: 54.46 / 54.23</p> <p>H: 3.34 / 3.33</p>
Smp.	128.6 °C

6.2.5 Verbindung 2.23

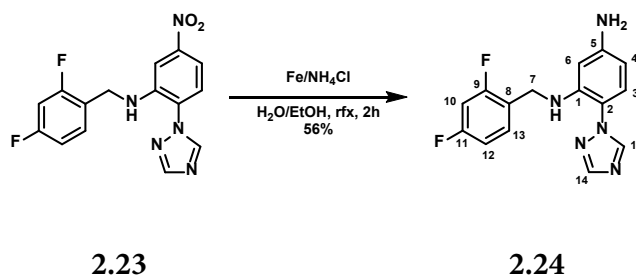


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2.22	1.00	3.00	0.85	246.24		
1H-1,2,4-Triazol	4.00	12.0	0.83	69.02		
Triethylamin	4.00	12.0	1.21	101.19	0.73	1.7
MeCN			2 mL/mmol			6

2.22 (0.85 g, 3.00 mmol, 1.00 äq) wurde in MeCN (6 mL) gelöst und 1H-1,2,4-Triazol (**2.10**, 0.83 g, 12.0 mmol, 4.00 äq) sowie Triethylamin (1.7 mL, 12.0 mmol, 4.00 äq) zugegeben. Der Ansatz wurde für 12 h in der Mikrowelle (150 °C, 300 W) gerührt, danach in EtOAc aufgenommen und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach Reinigung des Rohproduktes mittels MPLC (20-40% EtOAc in CH über 20 min, dann 40-60% über 10 min) wurden 0.73 g (2.21 mmol, 74%) des Produktes **2.23** als hellgelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 9.06 (s, 1H, 14-H), 8.38 (s, 1H, 15-H), 7.63 (d, ³ J = 8.6 Hz, 1H, 3-H), 7.54 (dd, ³ J = 8.6 Hz, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 4-H), 7.49 (d, ⁴ J = 2.6 Hz, 1H, 6-H), 7.44 (ddd, ³ J = 8.6 Hz, ⁴ J _{H,F} = 8.6 Hz, 6.9 Hz, 1H, 13-H), 7.27 (ddd, ³ J _{H,F} = 10.5 Hz, 9.3 Hz, ⁴ J = 2.6 Hz, 1H, 10-H), 7.06 (dddd, ³ J _{H,F} = 8.6 Hz, ³ J = 8.6 Hz, ⁴ J = 2.6 Hz, ⁵ J _{H,F} = 0.9 Hz, 1H, 12-H), 6.87 (t, ³ J = 6.0 Hz, 1H, 1-NH), 4.50 (d, ³ J = 6.0 Hz, 2H, 7-H ₂).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 161.5 (dd, ¹ J _{C,F} = 245.3 Hz, ³ J _{C,F} = 12.0 Hz, C9), 160.3 (dd, ¹ J _{C,F} = 247.1 Hz, ³ J _{C,F} = 12.0 Hz, C11), 148.3 (C14), 145.3 (C5), 142.3 (2C, C1/C15), 130.3 (dd, ³ J _{C,F} = 9.6, 6.0 Hz, C13), 126.9 (C2), 126.4 (C3), 121.4 (² J _{C,F} = 15.6 Hz, ⁴ J _{C,F} = 3.6 Hz, C8), 111.6 (² J _{C,F} = 21.0 Hz, ⁴ J _{C,F} = 2.4 Hz, C12), 110.6 (C4), 105.9 (C6), 103.9 (dd, ² J _{C,F} = 26.4, 25.8 Hz, C10), 39.4 (C7).
HR-MS:	Für C ₁₅ H ₁₁ F ₂ N ₅ O ₂ H (M+H) ⁺ ber.: 332.0954 gef.: 332.0962
EA:	Für C ₁₅ H ₁₁ F ₂ N ₅ O ₂ x 0.25 H ₂ O ber./gef. (%) N: 20.86 / 20.94 C: 53.65 / 53.51 H: 3.45 / 3.29
Smp.	148.4 °C

6.2.6 Verbindung 2.24

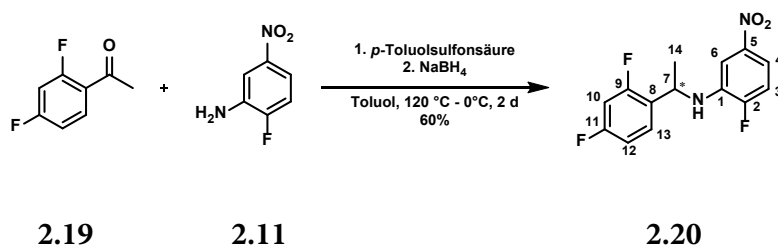


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2.23	1.00	1.50	0.50	331.28		
Eisenpulver	5.00	7.50	0.42	55.85		
NH ₄ Cl	0.60	0.90	0.05	53.49		
EtOH			0.84 mL/mmol			1.3
H ₂ O			2.5 mL/mmol			3.8

2.23 (0.50 g, 1.50 mmol, 1.00 äq) wurde in EtOH (1.3 mL) und H₂O (3.8 mL) gelöst, mit NH₄Cl (0.05 g, 0.90 mmol, 0.60 äq) und Eisenpulver (0.42 g, 7.50 mmol, 5.00 äq) versetzt und 2 h unter rfx gerührt. Anschließend wurde die Lösung mit H₂O (5 mL) und DCM (15 mL) verdünnt, die Phasen getrennt und die organische Phase mit gesättigter NaHCO₃-Lsg. gewaschen. Daraufhin wurde die vereinigte wässrige Phase nochmals mit DCM (3 x 10 mL) extrahiert, die vereinigte organische Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Reinigung des Rohproduktes mittels MPLC (0-5% MeOH in DCM über 20 min) wurden 0.25 g (0.82 mmol, 56%) des Produktes **2.24** als cremefarbener Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 8.66 (s, 1H, 14-H), 8.17 (s, 1H, 15-H), 7.35 (dt, ³ J = 8.6 Hz, ⁴ J _{H,F} = 6.9 Hz, 1H, 13-H), 7.21 (ddd, ³ J _{H,F} = 10.5 Hz, ³ J _{H,F} = 9.3 Hz, ⁴ J = 2.4 Hz, 1H, 10-H), 7.04 (ddd, ³ J _{H,F} = 8.5 Hz, ³ J = 8.5 Hz, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 12-H), 6.87 (d, ³ J = 8.3 Hz, 1H, 3-H), 5.93 (dd, ³ J = 8.3 Hz, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 4-H), 5.89 (d, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 6-H), 5.56 (t, ³ J = 5.9 Hz, 1H, 1-NH), 5.22 (s(b), 2H, 5-NH ₂), 4.28 (d, ³ J = 5.4 Hz, 2H, 7-H ₂).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 161.2 (dd, ¹ J _{C,F} = 244.7 Hz, ³ J _{C,F} = 12.0 Hz, C9), 160.0 (dd, ¹ J _{C,F} = 246.5 Hz, ³ J _{C,F} = 12.0 Hz, C11), 151.8 (C14), 150.5 (C5), 144.8 (C1), 142.8 (C15), 129.7 (dd, ³ J _{C,F} = 9.6, 6.0 Hz, C13), 126.7 (C3), 122.7 (dd, ² J _{C,F} = 14.9 Hz, ⁴ J _{C,F} = 2.4 Hz, C8), 112.5 (C2), 111.2 (dd, ² J _{C,F} = 21.0 Hz, ⁴ J _{C,F} = 2.4 Hz, C12), 103.6 (dd, ² J _{C,F} = 26.4, 25.8 Hz, C10), 102.2 (C4), 96.3 (C6).
HR-MS:	Für C ₁₅ H ₁₃ F ₂ N ₅ H (M+H) ⁺ ber.: 302.1212 gef.: 302.1203
EA:	Für C ₁₅ H ₁₃ F ₂ N ₅ ber./gef. (%) N: 23.24 / 23.08 C: 59.80 / 59.60 H: 4.35 / 4.41
Smp.	123.0 °C

6.2.7 Verbindung 2.20

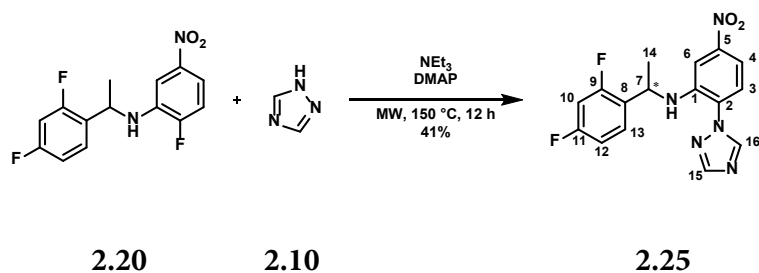


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2,4-Difluor-acetophenon	1.00	15.0	2.34	156.13	1.25	1.9
2-Fluor-5-nitroanilin	1.00	15.0	2.34	156.12		
<i>p</i> -Toluol-sulfonsäure x 1 H ₂ O	1 mol%	0.15	0.03	190.22		
NaBH ₄	2.00	30.0	1.13	37.83		
Toluol			1 mL/mmol			15

In einem Rundkolben wurde 2-Fluor-5-nitroanilin (**2.11**, 2.34 g, 15.0 mmol, 1.00 äq) in Toluol (15 mL) gelöst und 2,4-Difluoracetophenon (**2.19**, 2.34 g, 15.0 mmol, 1.00 äq) sowie *p*-Toluolsulfonsäure-monohydrat (0.03 g, 0.15 mmol, 1 mol%) zugegeben. Der Reaktionskolben wurde mit einem Wasserabscheider bestückt und für 48 h bei 150 °C gerührt. Nach Ablauf der Zeit wurde der Ansatz auf 0 °C gekühlt und mit MeOH (10 mL) versetzt, anschließend wurde NaBH₄ (1.13 g, 30.0 mmol, 2.00 äq) portionsweise zugegeben und für 1 h bei 0 °C sowie 1 h bei RT gerührt. Daraufhin wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-80% EtOAc in CH über 60 min) gereinigt. Das dabei anfallende Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan umkristallisiert, wobei 2.66 g (8.97 mmol, 60%) des Produktes **2.20** als gelber Feststoff erhalten wurde.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K);</p> <p>δ (ppm) = 7.49 (ddd, ³J = 8.9 Hz, ⁴J_{C,F} = 8.9, 6.6 Hz, 1H, 13-H), 7.44 (ddd, ³J = 8.7 Hz, ⁴J_{H,F} = 4.0 Hz, ⁴J = 2.7 Hz, 1H, 4-H), 7.29 (dd, ³J_{H,F} = 11.3 Hz, ³J = 8.7 Hz, 1H, 3-H), 7.26 - 7.21 (m, 2H, 6-H/10-H), 7.04 (dddd, ³J_{H,F} = 8.9 Hz, ³J = 8.2 Hz, ⁴J = 2.6 Hz, ⁵J_{H,F} = 0.6 Hz, 1H, 12-H), 6.73 (dd, ³J = 7.6 Hz, ⁴J_{H,F} = 1.5 Hz, 1H, 1-NH), 4.88 (dq, ³J = 7.2, 6.9 Hz, 1H, 7-H), 1.53 (d, ³J = 6.9 Hz, 3H, 14-H₃).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K);</p> <p>δ (ppm) = 161.2 (dd, ¹J_{C,F} = 245.3 Hz, ³J_{C,F} = 12.0 Hz, C9), 159.7 (dd, ¹J_{C,F} = 245.9 Hz, ³J_{C,F} = 12.0 Hz, C11), 154.2 (d, ¹J_{C,F} = 250.7 Hz, C2), 144.5 (d, ⁴J_{C,F} = 2.4 Hz, C5), 136.2 (d, ²J_{C,F} = 14.4 Hz, C1), 128.4 (dd, ³J_{C,F} = 9.6, 6.0 Hz, C13), 126.9 (dd, ²J_{C,F} = 14.4 Hz, ⁴J_{C,F} = 3.6 Hz, C8), 115.2 (d, ²J_{C,F} = 21.6 Hz, C3), 111.9 (dd, ²J_{C,F} = 22.2 Hz, ⁴J_{C,F} = 3.6 Hz, C12), 111.8 (d, ³J_{C,F} = 8.4 Hz, C4), 106.5 (d, ³J_{C,F} = 7.2 Hz, C6), 103.7 (dd, ²J_{C,F} = 26.4 Hz, C10), 45.3 (C7), 22.2 (C14).</p>
HR-MS: (APCI)	<p>Für C₁₄H₁₁F₃N₂O₂H (M+H)⁺</p> <p>ber.: 297.0845</p> <p>gef.: 297.0853</p>
EA:	<p>C₁₄H₁₁F₃N₂O₂ ber./gef. (%)</p> <p>N: 9.46 / 9.54</p> <p>C: 56.76 / 56.75</p> <p>H: 3.74 / 3.80</p>
Smp.	103.6 °C

6.2.8 Verbindung 2.25

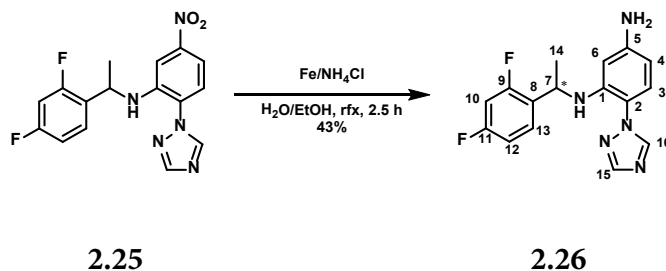


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2.20	1.00	5.06	1.50	296.25		
1H-1,2,4-Triazol	4.00	20.2	1.40	69.02		
Triethylamin	4.00	20.2	2.04	101.19	0.73	2.8
DMAP	0.10	0.51	0.06	122.17		
MeCN			2 mL/mmol			10

2.20 (1.50 g, 5.06 mmol, 1.00 äq) wurde in MeCN (10 mL) gelöst und 1H-1,2,4-Triazol (**2.10**, 1.40 g, 20.2 mmol, 4.00 äq) sowie Triethylamin (2.8 mL, 20.2 mmol, 4.00 äq) und DMAP (0.06 g, 0.51 mmol, 0.10 äq) zugegeben. Der Ansatz wurde für 12 h in der Mikrowelle gerührt (150 °C, 300 W), danach in EtOAc (20 mL) aufgenommen und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-3% MeOH in DCM über 30 min) gereinigt, dabei wurden 0.73 g (2.10 mmol, 41%) des Produktes **2.25** als hellgelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 9.14 (s, 1H, 15-H), 8.44 (s, 1H, 16-H), 7.67 (d, ³ J = 8.6 Hz, 1H, 3-H), 7.54 (dd, ³ J = 8.7 Hz, ⁴ J = 2.4 Hz, 1H, 4-H), 7.48 (ddd, ³ J = 8.9 Hz, ⁴ J _{H,F} = 8.6, 6.6 Hz, 1H, 13-H), 7.36 (d, ⁴ J = 2.6 Hz, 1H, 6-H), 7.27 (ddd, ³ J _{H,F} = 11.2, 9.1 Hz, ⁴ J = 2.6 Hz, 1H, 10-H), 7.04 (ddd, ³ J _{H,F} = 8.6 Hz, ³ J = 8.6 Hz, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 12-H), 6.85 (d, ³ J = 7.2 Hz, 1H, 1-NH), 4.96 (dq, ³ J = 6.9 Hz, 1H, 7-H), 1.50 (d, ³ J = 6.9 Hz, 3H, 14-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 161.4 (dd, ¹ J _{C,F} = 245.9 Hz, ³ J _{C,F} = 12.0 Hz, C9), 159.9 (dd, ¹ J _{C,F} = 246.5 Hz, ³ J _{C,F} = 12.0 Hz, C11), 147.9 (C1), 145.4 (C5), 140.8 (2C, C15/C16), 128.6 (dd, ³ J _{C,F} = 9.6, 6.0 Hz, C13), 126.8 (C2), 126.4 (dd, ² J _{C,F} = 13.2 Hz, ⁴ J _{C,F} = 3.6 Hz, C8), 125.7 (C3), 111.9 (dd, ² J _{C,F} = 21.0 Hz, ⁴ J _{C,F} = 3.0 Hz, C12), 111.0 (C4), 106.8 (C6), 104.0 (dd, ² J _{C,F} = 26.4 Hz, C10), 46.0 (C7), 22.3 (C14).
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₁₂ F ₂ N ₅ O ₂ H (M+H) ⁺ ber.: 346.1110 gef.: 346.1119
EA:	Für C ₁₆ H ₁₂ F ₂ N ₅ O ₂ ber./gef. (%) N: 20.28 / 20.25 C: 55.65 / 55.67 H: 3.79 / 3.67
Smp.	152.8 °C

6.2.9 Verbindung 2.26

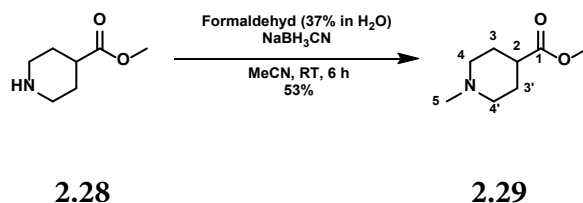


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2.25	1.00	1.16	0.40	345.31		
Eisenpulver	10.0	11.6	0.65	55.85		
NH ₄ Cl	1.00	1.16	0.06	53.49		
EtOH			1.6 mL/mmol			1.9
H ₂ O			2.5 mL/mmol			2.9

2.25 (0.40 g, 1.16 mmol, 1.00 äq) wurde in EtOH (1.9 mL) und H₂O (2.9 mL) gelöst, mit NH₄Cl (0.06 g, 1.16 mmol, 1.00 äq) und Eisenpulver (0.65 g, 11.6 mmol, 10.0 äq) versetzt und 2.5 h unter rfx gerührt. Anschließend wurde die Lösung in MeOH (10 mL) aufgenommen und über Celite filtriert. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-10% MeOH in DCM über 30 min) gereinigt. Das anfallende Rohprodukt wurde aus Et₂O umkristallisiert, wobei 0.16 g (0.50 mmol, 43%) des Produktes **2.26** als cremefarbener Feststoff erhalten wurden.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 8.71 (s, 1H, 15-H), 8.23 (s, 1H, 16-H), 7.36 (ddd, ³ J = 8.9, 8.6, 6.6 Hz, 1H, 10-H), 7.21 (ddd, ³ J = 9.3 Hz, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 12-H), 7.02 (ddd, ³ J = 8.6 Hz, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 13-H), 6.89 (d, ³ J = 8.3 Hz, 1H, 3-H), 5.91 (dd, ³ J = 8.3 Hz, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 4-H), 5.76 (d, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 6-H), 5.44 (d, ³ J = 7.2 Hz, 1H, 1-NH), 5.17 (s, 2H, 5-NH ₂), 4.69 (dq, ³ J = 7.2, 6.6 Hz, 1H, 7-H), 1.37 (d, ³ J = 6.6 Hz, 3H, 14-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 161.1 (dd, ¹ J _F = 244.7 Hz, ³ J _F = 12.0 Hz, C9), 159.8 (dd, ¹ J _F = 246.5 Hz, ³ J _F = 12.6 Hz, C11), 151.9 (C16), 150.3 (C5), 144.6 (C15), 141.4 (C1), 128.1 (dd, ² J _F = 9.0, 6.6 Hz, C10), 127.7 (dd, ² J _F = 13.8 Hz, ⁴ J _F = 3.0 Hz, C8), 126.1 (C3), 112.5 (C2), 111.5 (dd, ² J _F = 21.0 Hz, ⁴ J _F = 3.0 Hz, C12), 103.9 (t, ³ J _F = 26.6 Hz, C13), 102.5 (C4), 97.3 (C6), 45.7 (C7), 22.8 (C14).
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₁₅ F ₂ N ₅ H (M+H) ⁺ ber.: 316.1368 gef.: 316.1362
EA:	Für C ₁₆ H ₁₅ F ₂ N ₅ ber./gef. (%) N: 22.21 / 22.01 C: 60.94 / 60.67 H: 4.80 / 4.91
Smp.	159.9 °C

6.2.10 Verbindung 2.29

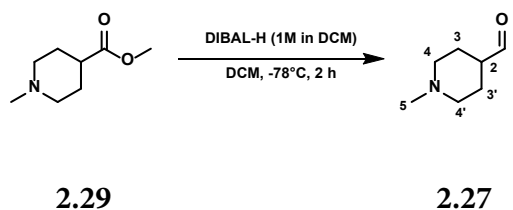


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
Methylisonipecotat	1.00	20.0	2.86	143.19	1.06	2.7
Formaldehyd (37% in H ₂ O)	3.10	62.0	5.03	30.03	1.09	4.6
NaBH ₃ CN	1.50	30.0	1.89	62.84		
MeCN			1 mL/mmol			20

Methylisonipecotat (**2.28**, 2.86 g, 20.0 mmol, 1.00 äq) wurde in MeCN (20 mL) gelöst und mit Formaldehyd-Lsg. (37% in H₂O) versetzt. Anschließend wurde in kleinen Portionen NaBH₃CN (1.89 g, 30.0 mmol, 1.50 äq) zugegeben und das Gemisch 6 h bei RT gerührt. Nach Ablauf der Zeit wurde das Reaktionsgemisch in gesättigte NaHCO₃-Lsg. (50 mL) aufgenommen und mit DCM (3 x 50 mL) und EtOAc (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Eine Aufreinigung des Rohproduktes via Kugelrohrdestillation (0.4 mbar, 48-50 °C) ergab 1.67 g (10.6 mmol, 53%) des Produktes **2.29** als farbloses Öl.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); H _{e/a} = H _{equatorial} oder H _{axial} δ (ppm) = 3.59 (s, 3H, 1-OMe), 2.67 (ddd, ² J = 11.7 Hz, ³ J _{ee} = 3.2 Hz, ³ J _{ea} = 3.2 Hz, 2H, 4/4'-H _e), 2.25 (tt, ³ J = 11.3, 4.0 Hz, 1H, 2-H), 2.12 (s, 3H, 5-H ₃), 1.89 (ddd, ² J = 11.5 Hz, ³ J _{aa} = 11.5 Hz, ³ J _{ae} = 2.6 Hz, 2H, 4/4'-H _a), 1.79 - 1.75 (m, 2H, 3/3'-H _{e/a}), 1.55 (sm, 2H, 3/3'-H _{e/a}).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 174.8 (C1), 54.3 (2C, C4/4'), 51.3 (-OMe), 46.0 (C5), 39.7 (C2), 27.9 (2C, C3/3').
HR-MS:	Für C ₈ H ₁₅ NO ₂ H (M+H) ⁺ ber.: 158.1176 gef.: 158.1176

6.2.11 Verbindung 2.27

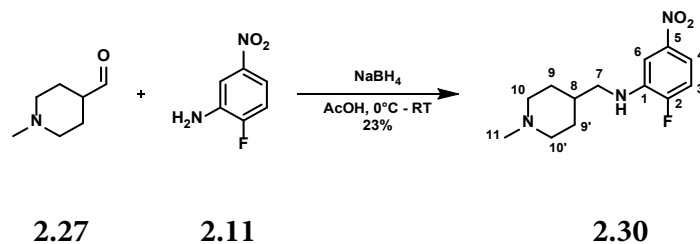


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2.29	1.00	8.00	1.26	157.21		
DIBAL-H (1 M in DCM)	2.00	16.0				16
DCM abs.			2 mL/mmol			16

2.29 (1.26 g, 8.00 mmol, 1.00 äq) wurde unter Argon-Atmosphäre in DCM abs. (16 mL) gelöst und auf -78°C gekühlt. Dann wurde 1 M DIBAL-H (DCM, 16 mL, 16.0 mmol) so langsam zugetropft, dass eine Temperatur von -70°C nicht überschritten wurde. Nach vollständiger Zugabe wurde das Reaktionsgemisch für 2 h bei -78°C gerührt, anschließend wurde es tropfenweise zunächst mit MeOH (5.4 mL) und dann mit H_2O (5 mL) versetzt, wobei abermals eine Temperatur von -70°C nicht überschritten wurde. Daraufhin wurde der Ansatz mit Rochelle-Lsg. (30 mL) versetzt und über Nacht bei RT gerührt. Am nächsten Tag wurden die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit DCM (2 x 30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, dabei wurden 1.16 g des Rohproduktes **2.27** als gelbliches Öl erhalten und ohne weitere Aufreinigung umgesetzt.

¹H-NMR: (300 MHz, DMSO-d₆, 300 K); H_{e/a} = H_{equatorial} oder H_{axial}
δ (ppm) = 9.64 (s, 1H, 1-H), 2.76 (sm, 2H, 4/4'-H_{e/a}), 2.26 (s, 3H, 5-H₃), 2.24 - 2-
16 (m, 1H, 2-H), 2.06 (dt, ³J = 11.1 Hz, ⁴J = 2.5 Hz, 2H, 4/4'-H_{e/a}), 1.94 - 1.84 (m,
2H, 3/3'-H_{e/a}), 1.75 - 1.62 (m, 2H, 3/3'-H_{e/a}).

6.2.12 Verbindung 2.30

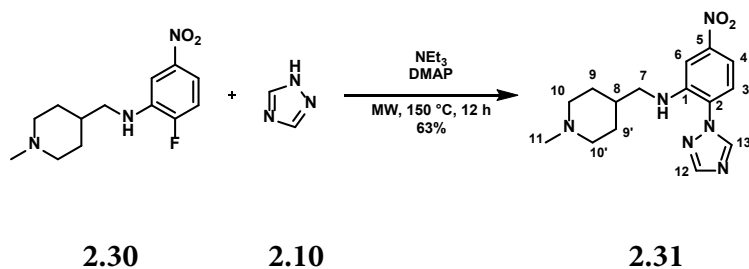


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2.27	1.00	4.37	0.56	127.19		
2-Fluor-5-nitroanilin	1.10	4.81	0.75	156.12		
NaBH ₄	4.00	15.5	0.66	37.83		
AcOH			2 mL/mmol			9

2.27 (0.56 g, 4.37 mmol, 1.00 äq) und 2-Fluor-5-nitroanilin (**2.11**, 0.75 g, 4.81 mmol, 1.10 äq) wurden in AcOH (9 mL) gelöst und mit 3 Å Molsieb für 5 h unter Argon gerührt. Nach Ablauf der Zeit wurde der Ansatz auf 0 °C gekühlt und NaBH₄ (0.66 g, 17.5 mmol, 4.00 äq) portionsweise zugegeben. Danach wurde die Reaktionslösung zuerst für 30 min bei 0 °C und dann für 30 min bei RT gerührt, anschließend mit gesättigter NaHCO₃-Lsg. (30 mL) versetzt und bis zur Beendigung der Gasbildung gerührt. Im Anschluss wurde die Lösung mit DCM (3 x 50 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-15% MeOH in DCM über 30 min) gereinigt, dabei wurden 0.27 g (1.02 mmol, 23%) des Produktes **2.30** als oranger Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); H_{e/a} = H_{equatorial} oder H_{axial}</p> <p>δ (ppm) = 7.41 - 7.39 (m, 2H, 4-H + 6-H), 7.26 (dd, ³J = 10.0 Hz, 1H, 3-H), 6.21 (s, 1H, 1-NH), 3.04 (dd, ³J = 6.2 Hz, 2H, 7-H₂), 2.75 (d, ²J = 11.2 Hz, 2H, 10/10'-H_e), 2.14 (s, 3H, 11-H₃), 1.81 (dd, ²J = 11.0 Hz, ³J_{aa} = 11.0 Hz, 2H, 10/10'-H_a), 1.69 (d, ²J = 12.3 Hz, 2H, 9/9'-H_{e/a}), 1.62 - 1.52 (m, 1H, 8-H), 1.24 - 1.17 (m, 2H, 9/9'-H_{e/a}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K);</p> <p>δ (ppm) = 154.0 (d, ¹J_{C,F} = 250.7 Hz, C2), 144.9 (C5), 137.9 (d, ²J_{C,F} = 14.4 Hz, C1), 114.8 (d, ²J_{C,F} = 21.6 Hz, C3), 110.5 (d, ³J_{C,F} = 8.4 Hz, C4), 105.3 (d, ³J_{C,F} = 7.2 Hz, C6), 55.0 (2C, C10/10'), 48.0 (C7), 46.1 (C11), 34.1 (C8), 29.8 (2C, C9/9').</p>
HR-MS:	<p>Für C₁₃H₁₈FN₃O₂H (M+H)⁺</p> <p>ber.: 268.1456</p> <p>gef.: 268.1453</p>
EA:	<p>Für C₁₃H₁₈FN₃O₂ x 0.25 H₂O ber./gef. (%)</p> <p>N: 15.46 / 15.18</p> <p>C: 57.45 / 57.31</p> <p>H: 6.86 / 6.41</p>
Smp.	81.7 °C

6.2.13 Verbindung 2.31

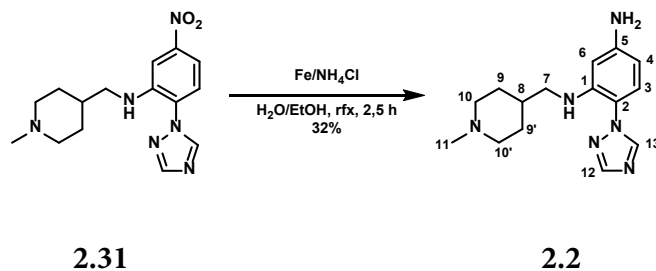


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2.30	1.00	0.75	0.20	267.30		
1H-1,2,4-Triazol	4.00	3.00	0.21	69.07		
Triethylamin	4.00	3.00	0.30	101.19	0.73	0.42
DMAP	0.10	0.08	0.01	122.17		
MeCN			2 mL/mmol			1.5

2.30 (0.20 g, 0.75 mmol, 1.00 äq) wurde in MeCN (1.5 mL) gelöst und 1H-1,2,4-Triazol (**2.10**, 0.21 g, 3.00 mmol, 4.00 äq), Triethylamin (0.42 mL, 3.00 mmol, 4.00 äq) sowie DMAP (0.01 g, 0.08 mmol, 0.10 äq) zugegeben. Der Ansatz wurde für 12 h in der Mikrowelle (150 °C, 300 W) gerührt, in EtOAc aufgenommen und danach am Rotationsverdampfer eingengt. Eine Aufreinigung des Rohproduktes mittels MPLC (0-15% MeOH in DCM über 30 min) ergab 0.15 g (0.47 mmol, 63%) des Produktes **2.31** als gelben Feststoff.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); H_{e/a} = H_{equatorial} oder H_{axial}</p> <p>δ (ppm) = 9.05 (s, 1H, 13-H), 8.38 (s, 1H, 12-H), 7.62 (d, ³J = 8.6 Hz, 1H, 3-H), 7.53 (d, ⁴J = 2.6 Hz, 1H, 6-H) 7.50 (dd, ³J = 8.5 Hz, ⁴J = 2.4 Hz, 1H, 4-H), 6.40 (t, ³J = 5.4 Hz, 1H, 1-NH), 3.10 (dd, ³J = 6.2 Hz, 2H, 7-H₂), 2.78 (d, ²J = 11.5 Hz, 2H, 10/10'-H_e), 2.16 (s, 3H, 11-H₃), 1.87 (ddd, ²J = 11.3 Hz, ³J_{aa} = 11.9 Hz, ³J_{ae} = 1.6 Hz, 2H, 10/10'-H_a), 1.67 (d, ²J = 12.6 Hz, 2H, 9/9'-H_{e/a}), 1.57 (sm, 1H, 8-H), 1.24 (sm, 2H, 9/9'-H_{e/a}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K);</p> <p>δ (ppm) = 152.6 (C12), 148.4 (C5), 145.2 (C13), 142.7 (C1), 126.3 (C2), 125.8 (C3), 109.8 (C4), 105.7 (C6), 54.8 (2C, C10/10'), 48.0 (C7), 45.8 (C11), 33.9 (C8), 29.4 (2C, C9/9').</p>
HR-MS:	<p>Für C₁₅H₂₀N₆O₂H (M+H)⁺</p> <p>ber.: 317.1721</p> <p>gef.: 317.1717</p>
Reinheit	Die Reinheit wurde mittels qNMR auf 91.1% bestimmt (Standard: Dimethylterephthalat).
Smp.	103.1 °C

6.2.14 Verbindung 2.2

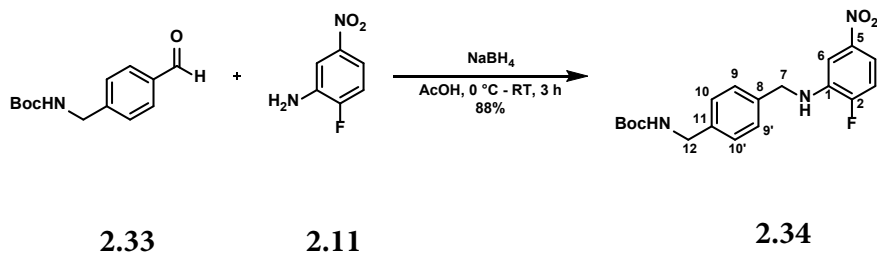


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2.31	1.00	0.94	0.30	316.37		
Eisenpulver	10.0	9.40	0.52	55.85		
NH ₄ Cl	0.53	0.50	0.03	53.49		
EtOH			5.0 mL/mmol			5.0
H ₂ O			2.5 mL/mmol			2.5

2.31 (0.30 g, 0.94 mmol, 1.00 äq) wurde in EtOH (5.0 mL) und H₂O (2.5 mL) gelöst, mit NH₄Cl (0.03 g, 0.50 mmol, 0.53 äq) und Eisenpulver (0.53 g, 9.40 mmol, 10.0 äq) versetzt und 2.5 h unter Rfx gerührt. Anschließend wurde der Ansatz in MeOH (20 mL) aufgenommen, über Celite filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Aufreinigung des Rohproduktes mittels MPLC (Amin-Säule, 40-80% EtOAc in CH über 40 min) wurden 87 mg (0.30 mmol, 32%) des Produktes **2.2** als hellgrauer Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); H_{e/a} = H_{axial} oder H_{equatorial}</p> <p>δ (ppm) = 8.62 (s, 1H, 13-H), 8.17 (s, 1H, 12-H), 6.86 (d, ³J = 8.3 Hz, 1H, 3-H), 6.01 (d, ⁴J = 2.0 Hz, 1H, 6-H), 5.90 (dd, ³J = 8.3 Hz, ⁴J = 2.0 Hz, 1H, 4-H), 5.20 (s, 2H, 5-NH₂), 5.05 (t, ³J = 5.7 Hz, 1H, 1-NH), 2.87 (t, ³J = 6.2 Hz, 2H, 7-H₂), 2.73 (d, ²J = 11.5 Hz, 2H, 10/10'-H_e), 2.12 (s, 3H, 11-H₃), 1.78 (ddd, ²J = 11.7 Hz, ³J_{aa} = 11.7 Hz, ³J_{ea} = 2.3 Hz, 2H, 10/10'-H_a), 1.60 (d, ²J = 11.5 Hz, 2H, 9/9'-H_{e/a}), 1.47 (sm, 1H, 8-H), 1.14 (sm, 2H, 9/9'-H_{e/a}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K);</p> <p>δ (ppm) = 151.7 (C12), 150.5 (C5), 144.5 (C13), 143.3 (C1), 126.1 (C3), 112.3 (C2), 101.6 (C4), 96.3 (C6), 55.1 (2C, C10/10'), 48.4 (C7), 46.1 (C11), 34.1 (C8), 29.8 (2C, C9/9').</p>
HR-MS:	<p>Für C₁₅H₂₂N₆H (M+H)⁺</p> <p>ber.: 287.1979</p> <p>gef.: 287.1973</p>
Reinheit:	<p>Für C₁₅H₂₂N₆ ber./gef. (%) * Aufgrund des hohen Gewichtsanteils methodenbedingt nicht exakt bestimmbar</p> <p>N: 29.35 / 28.58*</p> <p>C: 62.91 / 62.91</p> <p>H: 7.74 / 8.00</p>
Smp.	138.8 °C

6.2.15 Verbindung 2.34

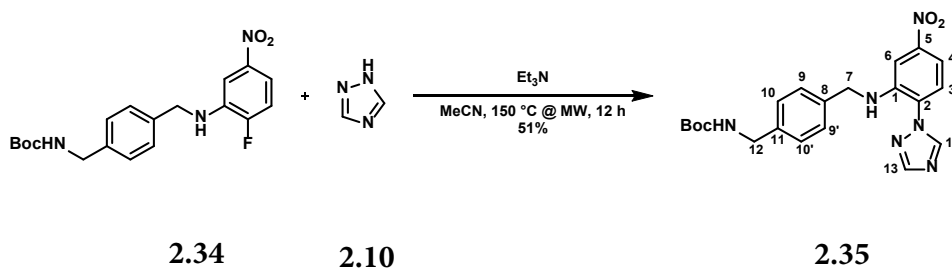


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2-Fluor-5-nitroanilin	1.00	5.00	0.78	156.12		
N-Boc-4-aminomethylbenzaldehyd	1.20	6.00	1.41	235.28		
NaBH ₄	2.00	10.0	0.38	37.83		
AcOH			4 mL/mmol			20

Eine Lösung von 2-Fluor-5-nitroanilin (**2.11**, 0.78 g, 5.00 mmol, 1.00 äq) und N-Boc-4-aminomethylbenzaldehyd (**2.33**, 1.41 g, 6.00 mmol, 1.20 äq) in AcOH (20 mL) wurde mit 3 Å Molsieb versetzt und für 2.5 h unter Argon gerührt. Dann wurde der Ansatz auf 10 °C gekühlt, portionsweise NaBH₄ (0.38 g, 10.0 mmol, 2.00 äq) zugegeben und für weitere 30 min bei 10 °C gerührt. Anschließend wurde der Ansatz vorsichtig mit H₂O (100 mL) versetzt und der entstandene Niederschlag abfiltriert. Der Feststoff wurde in EtOAc (100 mL) aufgenommen, die organische Phase mit sat. NaHCO₃ (aq., 30 mL) und Brine (30 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Dabei wurden 1.65 g (4.39 mmol, 88%) des Produktes **2.34** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 7.43 - 7.39 (m, 1H, 12-NH), 7.33 - 7.26 (m, 5H, 3-H + 4-H + 6-H + 10/10'-H), 7.19 (d, ³ J = 8.0 Hz, 2H, 9/9'-H), 6.95 (t, ³ J = 5.6 Hz, 1H, 1-NH), 4.41 (d, ³ J = 6.0 Hz, 2H, 7-H ₂), 4.09 (d, ³ J = 6.0 Hz, 2H, 12-H ₂), 1.38 (s, 9H, Boc).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 155.7 (CO _{Boc}), 154.2 (d, ¹ J _{C,F} = 250 Hz, C2), 144.6 (C5), 138.8 (C8), 137.4 (d, ² J _{C,F} = 13.5 Hz, C1), 137.0 (C11), 127.1 (2C, C9/9' / C10/10')*, 126.8 (2C, C9/9' / C10/10')*, 114.9 (d, ² J _{C,F} = 21.4 Hz, C3), 111.1 (d, ³ J _{C,F} = 8.7 Hz, C6), 106.0 (d, ³ J _{C,F} = 6.3 Hz, C4), 77.7 (C _q Boc), 45.3 (C7), 43.0 (C12), 28.2 (3C, CH ₃ Boc).
HR-MS:	Für C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₄ Na (M+Na) ⁺ ber.: 398.1487 gef.: 398.1496
EA:	Für C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₄ ber./gef. (%) N: 11.19 / 11.02 C: 60.79 / 60.48 H: 5.91 / 5.98
Smp.	114.7 °C

6.2.16 Verbindung 2.35

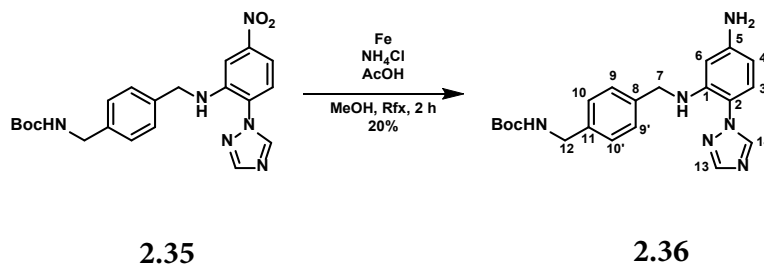


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2.34	1.00	2.13	0.80	375.40		
1H-1,2,4-Triazol	4.00	8.52	0.59	69.07		
Et ₃ N	4.00	8.52	0.86	101.19	0.73	1.2
MeCN			2 mL/mmol			4.3

Eine Lösung von **2.34** (0.80 g, 2.13 mmol, 1.00 äq) und 1H-1,2,4-Triazol (**2.10**, 0.59 g, 8.52 mmol, 4.00 äq) in MeCN (4.3 mL) wurde mit Et₃N (1.2 mL, 8.52 mmol, 4.00 äq) versetzt und für 12 h bei 150 °C/300 W in der Mikrowelle gerührt. Anschließend wurde der Ansatz in EtOAc (30 mL) aufgenommen und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (20-60% EtOAc in CH über 40 min) gereinigt, dabei wurden 0.46 g (1.09 mmol, 51%) des Produktes **2.35** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 9.07 (s, 1H, 14-H), 8.38 (s, 1H, 13-H), 7.61 (d, ³ J = 8.6 Hz, 1H, 3-H), 7.50 (dd, ³ J = 8.6 Hz, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 4-H), 7.43 (d, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 6-H), 7.32 (d, ³ J = 8.0 Hz, 3H, 10/10'-H + 12-NH), 7.20 (d, ³ J = 8.0 Hz, 2H, 9/9'-H), 6.91 (t, ³ J = 5.9 Hz, 1H, 1-NH), 4.45 (d, ³ J = 5.7 Hz, 2H, 7-H ₂), 4.10 (d, ³ J = 6.0 Hz, 2H, 12-H ₂), 1.38 (s, 9H, Boc).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * ¹ = Signal für zweites C fehlt δ (ppm) = 155.7 (CO _{Boc}), 148.2 (C13/14)* ¹ , 145.3 (C5), 142.7 (C8), 139.0 (C1), 136.7 (C11), 127.1 (2C, C10/10'), 126.8 (2C, C9/9'), 126.7 (C2), 126.2 (C3), 110.2 (C6), 106.2 (C4), 77.7 (C _q Boc), 45.7 (C7), 43.0 (C12), 28.2 (3C, CH ₃ Boc).
HR-MS:	Für C ₂₁ H ₂₄ N ₆ O ₄ Na (M+Na) ⁺ ber.: 447.1751 gef.: 447.1764
Smp.	146.1 °C

6.2.17 Verbindung 2.36

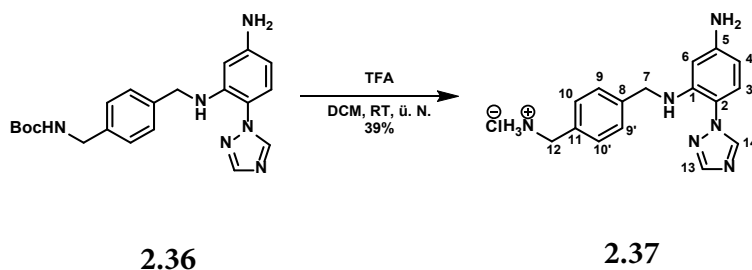


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2.35	1.00	1.79	0.76	424.46		
Eisenpulver	10.0	17.9	1.00	55.85		
NH ₄ Cl	0.60	1.07	0.06	53.49		
AcOH			0.84 mL/mmol			1.5
MeOH			5.5 mL/mmol			9.8

Eine Lösung von **2.35** (0.76 g, 1.79 mmol, 1.00 äq) in MeOH (9.8 mL) wurde mit Eisenpulver (1.00 g, 17.9 mmol, 10.0 äq), NH₄Cl (0.06 g, 1.07 mmol, 0.60 äq) und AcOH (1.5 mL) versetzt und für 2 h unter Rfx gerührt. Anschließend wurde der Ansatz mit MeOH (20 mL) verdünnt, über Celite filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert und zunächst mittels MPLC (40-100% EtOAc in CH über 40 min) und das erhaltene Rohprodukt nochmals mittels präparativer HPLC (5-95% MeCN in H₂O über 1 h) gereinigt, dabei wurden 0.14 g, (0.35 mmol, 20%) des Produktes **2.36** als bräunlicher Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = Eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 8.66 (s, 1H, 14-H), 8.16 (s, 1H, 13-H), 7.32 (t, ³ J = 5.6 Hz, 1H, 12-NH), 7.24 (d, ³ J = 8.0 Hz, 2H, 9/9'-H / 10/10'-H)*, 7.17 (d, ³ J = 8.0 Hz, 2H, 9/9'-H / 10/10'-H)*, 6.85 (d, ³ J = 8.9 Hz, 1H, 3-H), 5.94 - 5.85 (m, 2H, 4-H + 6-H), 5.54 (t, ³ J = 6.0 Hz, 1H, 1-NH), 5.15 (s, 2H, 5-NH ₂), 4.22 (d, ³ J = 5.7 Hz, 2H, 7-H ₂), 4.09 (d, ³ J = 6.0 Hz, 2H, 12-H ₂), 1.39 (s, 9H, Boc).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = Eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 155.7 (CO _{Boc}), 151.8 (C13), 150.4 (C5), 144.8 (C14), 143.2 (C1), 138.6 (C8), 138.1 (C11), 126.9 (2C, C9/9' / C10/10')*, 126.7 (2C, C9/9' / C10/10')*, 126.4 (C3), 112.4 (C2), 101.9 (C6), 96.4 (C4), 77.7 (C _q Boc), 45.8 (C7), 43.1 (C12), 28.2 (3C, CH ₃ Boc).
HR-MS:	Für C ₂₁ H ₂₆ N ₆ O ₂ H (M+H) ⁺ ber.: 395.2190 gef.: 395.2204
Smp.	63.8 °C

6.2.18 Verbindung 2.37

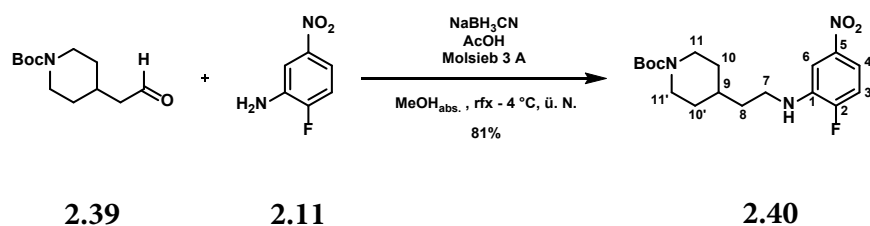


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2.36	1.00	0.75	0.30	394.48		
TFA	5.00	3.74	0.43	114.02	1.48	0.3
DCM			10 mL/mmol			7.5

Eine Lösung von **2.36** (0.30 g, 0.75 mmol, 1.00 äq) in DCM (7.5 mL) wurde mit TFA (0.3 mL, 3.74 mmol, 5.00 äq) versetzt und ü. N. bei RT gerührt. Am nächsten Tag wurde der Ansatz mit 2 M K_2CO_3 (aq., 20 mL) versetzt und mit DCM (3 x 50 mL) extrahiert, die vereinigte organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert, mittels MPLC (0-15% MeOH in DCM über 30 min) gereinigt und das Produkt mit 4 M HCl (aq.) in das entsprechende Hydrochlorid überführt. Dabei wurden 95 mg (0.29 mmol, 39%) des Produktes **2.37** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = Eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 9.01 (s, 1H, 14-H), 8.53 (s, 3H, 12-NH ₃ ⁺), 8.37 (s, 1H, 13-H), 7.46 (s, ³ J = 8.2 Hz, 2H, 9/9'-H / 10/10'-H)*, 7.39 (s, ³ J = 8.2 Hz, 2H, 9/9'-H / 10/10'-H)*, 7.34 (d, ³ J = 8.5 Hz, 1H, 3-H), 6.76 (d, ⁴ J = 2.1 Hz, 1H, 6-H), 6.63 (dd, ³ J = 8.2 Hz, ⁴ J = 2.1 Hz, 1H, 4-H), 6.19 (s(b), 3H, 1-NH + 5-NH ₂), 4.33 (s, 2H, 7-H ₂), 3.97 (q, ³ J = 5.7 Hz, 2H, 12-H ₂).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); Signal für C13 fehlt. δ (ppm) = 145.1 (C14), 143.2 (C5), 139.2 (C11), 134.5 (C1), 132.7 (C8), 129.1 (2C, C10/10'), 127.23 (C3), 127.17 (2C, C9/9'), 121.1 (C2), 109.8 (C6), 106.0 (C4), 45.5 (C7), 41.8 (C12).
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₁₉ N ₆ (M) ⁺ ber.: 295.1666 gef.: 295.1667
Smp.	237.4 °C

6.2.19 Verbindung 2.40

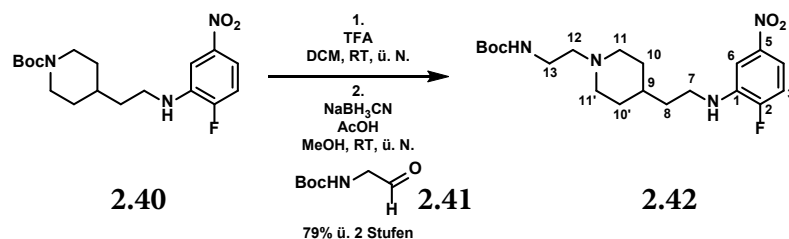


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
2-(N-Boc-4-piperidyl)-acetaldehyd	1.00	1.00	0.23	227.30		
2-Fluor-5-nitroanilin	1.20	1.20	0.19	156.12		
AcOH	3.00	3.00	0.18	60.05	1.05	0.17
NaBH ₃ CN	2.00	2.00	0.13	62.84		
MeOH _{abs.}			5 mL/mmol			5

In einem ausgeheizten Kolben mit 3 Å Molsieb wurden unter Argonatmosphäre 2-(N-Boc-4-piperidyl)-acetaldehyd (**2.39**, 0.23 g, 1.00 mmol, 1.00 äq) und 2-Fluor-5-nitroanilin (**2.11**, 0.19 g, 1.20 mmol, 1.20 äq) in MeOH_{abs.} (5 mL) gelöst und mit AcOH (0.17 mL, 3.00 mmol, 3.00 äq) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde zunächst für 2 h unter Rfx gerührt, auf 4 °C gekühlt und NaBH₃CN (0.13 g, 2.00 mmol, 2.00 äq) zugefügt, anschließend wurde ü. N. bei RT gerührt. Am nächsten Tag wurde der Ansatz in EtOAc (30 mL) aufgenommen und filtriert, anschließend wurde die organische Phase mit sat. NH₄Cl (aq., 10 mL), H₂O (10 mL) und Brine (10 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-15% EtOAc in CH über 35 min) gereinigt, dabei wurden 0.30 g (0.81 mmol, 81%) des Produktes **2.40** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); H_{e/a} = H_{equatorial} oder H_{axial}</p> <p>δ (ppm) = 7.44 - 7.40 (m, 2H, 4-H + 6-H), 7.27 (dd, ³J_{H,F} = 11.2 Hz, ³J = 8.7 Hz, 1H, 3-H), 6.15 (sm, 1H, 1-NH), 3.92 (d, ²J = 12.8 Hz, 2H, 11/11'-H_{e/a}), 3.18 (dt, ³J = 6.7, 5.7 Hz, 2H, 7-H₂), 2.68 (sm, 2H, 11/11'-H_{e/a}), 1.69 (d, ²J = 12.8 Hz, 2H, 10/10'-H_{e/a}), 1.53 (sm, 3H, 8-H₂ + 9-H), 1.39 (s, 9H, Boc), 1.02 (sm, 2H, 10/10'-H_{e/a}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K); * = Signal stark verbreitert</p> <p>δ (ppm) = 154.1 (d, ¹J_{C,F} = 250 Hz, C2), 153.8 (CO_{Boc}), 144.9 (C5), 137.7 (²J_{C,F} = 14.3 Hz, C1), 114.8 (²J_{C,F} = 21.4 Hz, C3), 110.6 (³J_{C,F} = 7.9 Hz, C4), 105.3 (³J_{C,F} = 6.3 Hz, C6), 78.3 (C_{qBoc}), 43.7 - 43.1 (2C, C11/11')*, 39.8 (C7), 34.4 (2C, C10/10'), 32.9 (C9), 31.6 (C8), 28.1 (3C, CH_{3Boc}).</p>
HR-MS:	<p>Für C₁₈H₂₆FN₃O₄Na (M+Na)⁺</p> <p>ber.: 390.1800</p> <p>gef.: 390.1808</p>
EA:	<p>Für C₁₈H₂₆FN₃O₄ ber./gef. (%)</p> <p>N: 11.44 / 11.44</p> <p>C: 58.84 / 58.83</p> <p>H: 7.13 / 7.02</p>
Smp.	128.8 °C

6.2.20 Verbindung 2.42

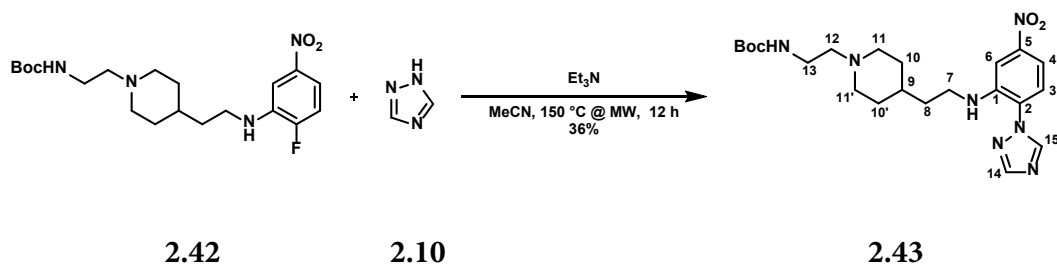


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2.40	1.00	0.82	0.30	367.42		
TFA	10.0	8.20	0.93	114.02	1.48	0.63
DCM			10 mL/mmol			8.2
N-Boc-2-amino-acetaldehyd	1.10	0.90	0.14	159.18		
AcOH	3.00	2.46	0.15	60.05	1.05	0.14
NaBH ₃ CN	2.00	1.64	0.10	62.84		
MeOH _{abs.}			5 mL/mmol			4.1

Eine Lösung von **2.40** (0.30 g, 0.82 mmol, 1.00 äq) in DCM (8.2 mL) wurde mit TFA (0.63 mL, 8.20 mmol, 10.0 äq) versetzt und ü. N. bei RT gerührt. Am nächsten Tag wurde der Ansatz mit 2 M K₂CO₃ (aq., 10 mL) versetzt und mit DCM (2 x 15 mL) extrahiert, die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in einem ausgeheizten Kolben in MeOH_{abs.} (3.1 mL) gelöst, anschließend wurde N-Boc-2-aminoacetaldehyd (**2.41**, 0.14 g, 0.90 mmol, 1.10 äq) in MeOH_{abs.} (1 mL) zugetropft. Nach Zugabe von AcOH (0.14 mL, 2.46 mmol, 3.00 äq) und NaBH₃CN (0.10 g, 1.64 mmol, 2.00 äq) wurde das Reaktionsgemisch ü. N. bei RT gerührt. Anschließend wurde der Ansatz in EtOAc (50 mL) aufgenommen, die organische Phase mit 2 M K₂CO₃, H₂O (je 2 x 20 mL) und Brine (20 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-10% MeOH in DCM über 40 min) gereinigt, dabei wurden 0.27 g (0.65 mmol, 79%) des Produktes **2.42** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, CDCl ₃ , 300 K); H _{e/a} = H _{equatorial} oder H _{axial} δ (ppm) = 7.52 (ddd, ³ J = 8.7 Hz, ⁴ J _{H,F} = 4.2 Hz, ⁴ J = 2.9 Hz, 1H, 4-H), 7.48 (dd, ⁴ J _{H,F} = 7.6 Hz, ⁴ J = 2.9 Hz, 1H, 6-H), 7.04 (dd, ³ J _{H,F} = 10.6 Hz, ³ J = 8.6 Hz, 1H, 3-H), 5.01 (s(b), 1H, 13-NH), 4.08 (sm, 1H, 1-NH), 3.22 (sm, 4H, 7-H ₂ + 13-H ₂), 2.89 (d, ² J = 11.2 Hz, 2H, 11/11'-H _{e/a}), 2.44 (t, ³ J = 5.7 Hz, 2H, 12-H ₂), 1.96 (dd, ² J = 11.0 Hz, ³ J = 11.0 Hz, 2H, 11/11'-H _{e/a}), 1.72 (d, ² J = 13.2 Hz, 2H, 10/10'-H _{e/a}), 1.63 (dt, ³ J = 7.5, 7.0 Hz, 2H, 8-H ₂), 1.45 (s, 10H, Boc + 9-H), 1.35 - 1.24 (m, 2H, 10/10'-H _{e/a}).
¹³C-NMR:	(125 MHz, CDCl ₃ , 300 K); δ (ppm) = 156.1 (CO _{Boc}), 154.6 (d, ¹ J _{C,F} = 250 Hz, C2), 145.3 (C5), 137.6 (d, ² J _{C,F} = 13.2 Hz, C1), 114.5 (d, ² J _{C,F} = 21.6 Hz, C3), 112.2 (d, ³ J _{C,F} = 8.4 Hz, C4), 106.4 (d, ³ J _{C,F} = 4.8 Hz, C6), 79.2 (C _q Boc), 57.6 (C12), 53.7 (2C, C11/11'), 41.0 (C7), 37.5 (C13), 35.9 (2C, C10/10'), 33.7 (C9), 32.3 (C8), 28.6 (3C, CH ₃ Boc).
HR-MS:	Für C ₂₀ H ₃₁ FN ₄ O ₄ H (M+H) ⁺ ber.: 411.2402 gef.: 411.2410
Smp.	74.8 °C

6.2.21 Verbindung 2.43

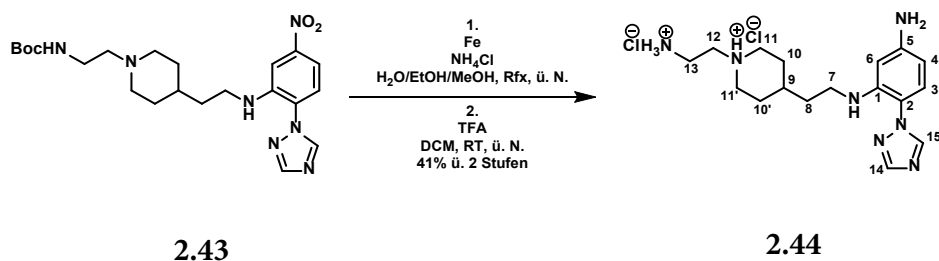


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2.42	1.00	1.00	0.41	410.49		
1H-1,2,4-Triazol	4.00	4.00	0.28	69.07		
Et ₃ N	4.00	4.00	0.40	101.19	0.73	0.55
MeCN			3 mL/mmol			3

Eine Lösung von **2.42** (0.41 g, 1.00 mmol, 1.00 äq) und 1H-1,2,4-Triazol (**2.10**, 0.28 g, 4.00 mmol, 4.00 äq) in MeCN (3 mL) wurde mit Et₃N (0.55 mL, 4.00 mmol, 4.00 äq) versetzt und für 12 h bei 150 °C/300 W in der Mikrowelle gerührt. Anschließend wurde der Ansatz in EtOAc (30 mL) aufgenommen, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand an Silicagel adsorbiert. Nach Reinigung mittel MPLC (0-10% MeOH in DCM über 35 min) wurden 0.17 g (0.36 mmol, 36%) des Produktes **2.43** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); H_{e/a} = H_{equatorial} oder H_{axial}</p> <p>δ (ppm) = 9.03 (s, 1H, 15-H), 8.36 (s, 1H, 14-H), 7.61 (d, ³J = 8.5 Hz, 1H, 3-H), 7.53 (d, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, 6-H), 7.50 (dd, ³J = 8.5 Hz, ⁴J = 2.5 Hz, 1H, 4-H), 6.55 (t, ³J = 5.1 Hz, 1H, 13-NH), 6.29 (t, ³J = 6.3 Hz, 1H, 1-NH), 3.21 (sm, 2H, 7-H₂), 3.01 (dt, ³J = 6.5 Hz, 2H, 13-H₂), 2.80 (d, ²J = 11.4 Hz, 2H, 11/11'-H_{e/a}), 2.28 (t, ³J = 7.0 Hz, 2H, 12-H₂), 1.87 (dd, ²J = 10.6 Hz, ³J = 10.6 Hz, 2H, 11/11'-H_{e/a}), 1.65 (d, ²J = 11.0 Hz, 2H, 10/10'-H_{e/a}), 1.50 (dt, ³J = 7.9, 6.9 Hz, 2H, 8-H₂), 1.37 (s, 9H, Boc), 1.31 (sm, 1H, 9-H), 1.16 (sm, 2H, 10/10'-H_{e/a}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Signal für C14 fehlt</p> <p>δ (ppm) = 155.5 (CO_{Boc}), 148.4 (C5), 145.2 (C1), 142.7 (C15), 126.4 (C2), 125.8 (C3), 109.8 (C4), 105.8 (C6), 77.4 (C_{q Boc}), 57.7 (C12), 53.3 (2C, C11/11'), 40.3 (C7), 37.6 (C13), 34.7 (2C, C10/10'), 33.1 (C9), 31.8 (C8), 28.2 (3C, CH_{3 Boc}).</p>
HR-MS:	<p>Für C₂₂H₃₃N₇O₄H (M+H)⁺</p> <p>ber.: 460.2667</p> <p>gef.: 460.2673</p>
Smp.	144.5 °C

6.2.22 Verbindung 2.44



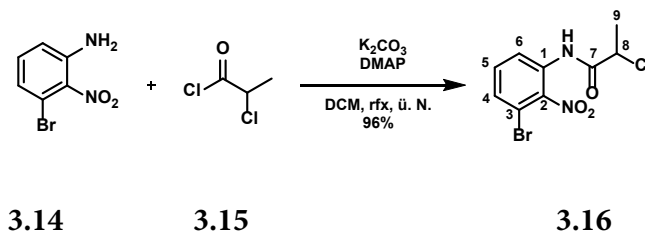
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
2.43	1.00	0.49	0.23	459.55		
Eisenpulver	10.0	4.90	0.27	55.85		
NH ₄ Cl	0.53	0.26	14 mg	53.49		
EtOH/MeOH (1:1)			3.2 mL/mmol			1.6
H ₂ O			1.0 mL/mmol			0.5
TFA	10.0	3.00	0.34	114.02	1.48	0.23
DCM			10 mL/mmol			3

Eine Suspension von **2.43** (0.23 g, 0.49 mmol, 1.00 äq), Eisenpulver (0.27 g, 4.90 mmol, 10.0 äq) und NH₄Cl (14 mg, 0.26 mmol, 0.53 äq) in H₂O (0.5 mL) und EtOH/MeOH (1:1, 1.6 mL) wurde ü. N. unter Rfx gerührt. Am nächsten Tag wurde der Ansatz in MeOH (20 mL) aufgenommen und über Celite filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-15% MeOH in DCM ü. 40 min) gereinigt, dabei wurden 0.13 g (0.30 mmol, 61%) des Zwischenproduktes als farbloses Öl erhalten. Dieses wurde in DCM (3 mL) gelöst, mit TFA (0.23 mL, 3.00 mmol, 10.0 äq) versetzt und ü. N. bei RT gerührt. Anschließend wurde der Ansatz mit H₂O (1 mL) versetzt und sat. NaHCO₃ (aq.) zugegeben, bis die wässrige Phase einen pH von ca. 8 aufwies. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mittels präparativer HPLC (5-95% MeCN in H₂O ü. 1 h) gereinigt. Das gewonnene Produkt wurde mit 4 M HCl (aq.) in das entsprechende Dihydrochlorid überführt, dabei wurden 80 mg (0.20 mmol, 41% ü. 2 Stufen) des Produktes **2.44** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); H_{e/a} = H_{equatorial} oder H_{axial}; * = Signal vermutlich aufgrund unterschiedlicher Ringkonformationen aufgespalten</p> <p>δ (ppm) = 11.01/10.90 (s, 1H, 11/11'-NH⁺)*, 8.99 (s, 1H, 15-H), 8.59 (s, 3H, 13-NH₃⁺), 8.37 (s, 1H, 14-H), 7.34 (d, ³J = 8.3 Hz, 1H, 3-H), 6.89 (d, ⁴J = 2.0 Hz, 1H, 6-H), 6.68 (dd, ³J = 8.3 Hz, ⁴J = 2.0 Hz, 1H, 4-H), 6.03 (s(b), 3H, 1-NH + 5-NH₂), 3.52 (d, ²J = 11.7 Hz, 2H, 11/11'-H_{e/a})*, 3.33 - 3.26 (m, 4H, 7-H₂ + 13-H₂)*, 3.11 (t, ³J = 7.2 Hz, 2H, 12-H₂), 2.98 (sm, 2H, 11/11'-H_{e/a}), 1.87 (d, ²J = 11.2 Hz, 2H, 10/10'-H_{e/a})*, 1.70 - 1.45 (m, 5H, 8-H₂ + 9-H + 10/10'-H_{e/a}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Signal für C14 fehlt; * = Signal vermutlich aufgrund unterschiedlicher Ringkonformationen aufgespalten/zustande gekommen; *¹ = überlagert mit DMSO-Signal</p> <p>δ (ppm) = 144.9 (C5), 143.1/143.0 (C15)*, 134.4 (C1), 127.0/126.9 (C3)*, 121.1 (C2), 109.6 (C4), 106.4/106.2 (C6)*, 53.2 (C12), 52.3 (2C, C11/11'), 48.5 (Isomer)*, 40.0 (C7)*¹, 34.0 (C13), 33.6/33.4 (2C, C10/10')*, 30.8 (C9), 28.6 (C8), 25.3 (Isomer)*.</p>
HR-MS: (APCI)	<p>Für C₁₇H₂₇N₇H (M+H)⁺</p> <p>ber.: 330.2401</p> <p>gef.: 330.2410</p>
Smp.	229.5 °C

6.3 Einzelsynthesen - Kapitel 3

6.3.1 Verbindung 3.16

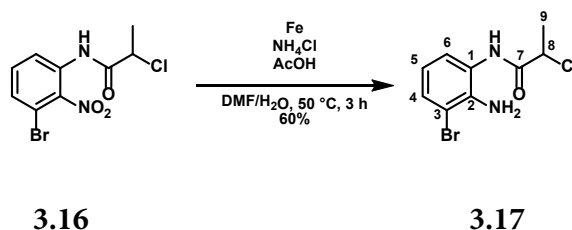


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3-Brom-2-nitroanilin	1.00	10.0	2.17	217.02		
K ₂ CO ₃	1.50	15.0	2.07	138.20		
2-Chlorpropionylchlorid	2.00 + 1.00	20.0 + 10.0	2.54	126.96	1.21	1.9 + 0.95
DMAP	0.10	1.00	0.12	122.17		
DCM			10 mL/mmol			100

Zu einer Lösung von 3-Brom-2-nitroanilin (**3.14**, 2.17 g, 10.0 mmol, 1.00 äq), K₂CO₃ (2.07 g, 15.0 mmol, 1.50 äq) und DMAP (0.12 g, 1.00 mmol, 0.10 äq) in DCM (80 mL) wurde 2-Chlorpropionylchlorid (**3.15**, 1.9 mL, 20.0 mmol, 2.00 äq) in DCM (20 mL) bei RT langsam dazugetropft. Anschließend wurde die Lösung ü. N. unter Reflux gerührt. Am nächsten Tag wurde nochmals 2-Chlorpropionylchlorid (0.95 mL, 10.0 mmol, 1.00 äq) zugetropft und erneut für ca. 5 h unter rfx gerührt, bis laut DC kein Edukt mehr vorhanden war. Daraufhin wurde der Ansatz für 30 min bei RT gerührt, filtriert und nacheinander mit 1 M HCl (2 x 50 mL), 2 M K₂CO₃ (2 x 50 mL) und Brine (1 x 50 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die Aufreinigung mittels MPLC (0-10% EtOAc in CH über 40 min) ergab 2.94 g (9.56 mmol, 96%) des Produktes **3.16** als leicht rötlichen Feststoff.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 10.48 (s, 1H, 1-NH), 7.77 (dd, ³ J = 7.7 Hz, ⁴ J = 1.4 Hz, 1H, 6-H), 7.61 (dd, ³ J = 8.0 Hz, ⁴ J = 1.4 Hz, 1H, 4-H), 7.57 (dd, ³ J = 8.0 Hz, 1H, 5-H), 4.71 (q, ³ J = 6.8 Hz, 1H, 8-H), 1.58 (d, ³ J = 6.9 Hz, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 168.4 (C7), 145.8 (C2), 132.4 (C5), 131.1 (C4), 130.6 (C1), 127.0 (C6), 113.0 (C3), 53.6 (C8), 20.9 (C9).
HR-MS (APCI):	Für C ₉ H ₈ BrClN ₂ O ₃ Na (M+Na) ⁺ ber.: 328.9299 / 330.9277 gef.: 328.9303 / 330.9282
EA:	Für C ₉ H ₈ BrClN ₂ O ₃ ber./gef. (%) N: 9.11 / 9.04 C: 35.15 / 35.40 H: 2.62 / 2.80
Smp.	103.2 °C

6.3.2 Verbindung 3.17

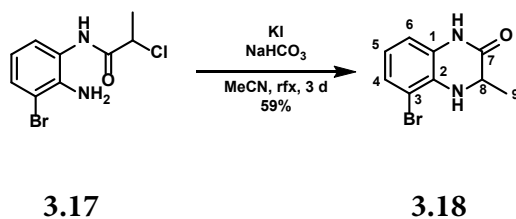


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.16	1.00	10.0	3.08	307.53		
Eisenpulver	10.0	100	5.59	55.85		
NH ₄ Cl	0.50	5.00	0.27	53.49		
AcOH			0.13 mL/mmol			1.3
DMF			2.5 mL/mmol			25
H ₂ O			7.0 mL/mmol			70

Eisenpulver (5.59 g, 10.0 mmol, 1.00 äq) und NH₄Cl (0.27 g, 5.00 mmol, 0.50 äq) wurden in einer Mischung aus AcOH (1.3 mL) und H₂O (70 mL) bei 50 °C für 15 min mit einem mechanischen Rührwerk vorgerührt. Dann wurde eine Lösung von **3.16** (3.08 g, 10.0 mmol, 1.00 äq) in DMF (25 mL) über einen Zeitraum von 15 min zugetropft und der Ansatz für weitere 2.5 h bei 50 °C gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf RT abgekühlt und über ein Pad aus Seesand und Celite filtriert. Das Filtrat wurde zunächst mit 1 M NaOH (aq.) auf einen pH-Wert von ca. 11 eingestellt und daraufhin mit EtOAc (3 x 150 mL) extrahiert, die organische Phase wurde anschließend mit 5% LiCl (aq., 3 x 100 mL) und Brine (1 x 50 mL) gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Der Filterkuchen wurde mit MeOH (3 x 100 mL) und EtOAc (3 x 100 mL) gespült und die organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Die organischen Phasen wurden vereinigt und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, das dabei erhaltene Rohprodukt wurde mittels Flash-Chromatographie (CH/EtOAc 2:1) gereinigt. Es wurden 1.68 g (6.04 mmol, 60%) des Produktes **3.17** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 9.59 (s, 1H, 1-NH), 7.29 (dd, ³ J = 8.0 Hz, ⁴ J = 1.4 Hz, 1H, 6-H), 7.20 (dd, ³ J = 7.7 Hz, ⁴ J = 1.2 Hz, 1H, 4-H), 6.54 (dd, ³ J = 7.9 Hz, 1H, 5-H), 5.03 (s(b), 2H, 2-NH ₂), 4.73 (q, ³ J = 6.7 Hz, 1H, 8-H), 1.63 (d, ³ J = 6.6 Hz, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 167.9 (C7), 140.0 (C2), 129.8 (C6), 125.4 (C4), 123.3 (C1), 116.9 (C5), 108.5 (C3), 54.5 (C8), 21.1 (C9).
HR-MS:	Für C ₉ H ₁₀ BrClN ₂ ONa (M+Na) ⁺ ber.: 298.9557 / 300.9535 gef.: 298.9558 / 300.9536
EA:	Für C ₉ H ₁₀ BrClN ₂ O ber./gef. (%) N: 10.09 / 10.03 C: 38.95 / 39.13 H: 3.63 / 3.71
Smp.	161.5 °C

6.3.3 Verbindung 3.18

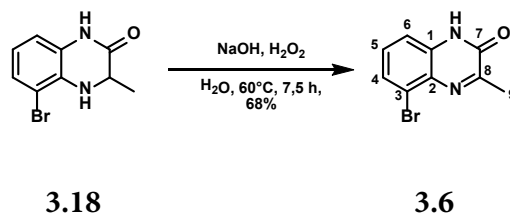


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.17	1.00	9.95	2.76	277.55		
NaHCO ₃	1.65	16.4	1.38	84.01		
KI	0.50	4.98	0.83	166.00		
MeCN			15 mL/mmol			150

Eine Lösung von **3.17** (2.76 g, 9.95 mmol, 1.00 äq) in MeCN (150 mL) wurde mit NaHCO₃ (1.38 g, 16.4 mmol, 1.65 äq) und KI (0.83 g, 4.98 mmol, 0.50 äq) versetzt und für 3 d unter rfx gerührt. Nach Ablauf der Zeit wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in EtOAc (300 mL) aufgenommen und mit H₂O (2 x 100 mL) und Brine (100 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Aufreinigung mittels Flash-Chromatographie (CH/EtOAc 2:1) wurden 1.43 g (5.91 mmol, 59%) des Produktes **3.18** als beiger Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 10.38 (s, 1H, 1-NH), 7.04 (dd, ³ J = 8.0 Hz, ⁴ J = 1.2 Hz, 1H, 6-H), 6.75 (dd, ³ J = 7.7 Hz, ⁴ J = 1.2 Hz, 1H, 4-H), 6.56 (dd, ³ J = 7.9 Hz, 1H, 5-H), 5.52 (s, 1H, 2-NH), 3.91 (dq, ³ J = 6.7 Hz, ³ J _{NH} = 2.0 Hz, 1H, 8-H), 1.27 (d, ³ J = 6.9 Hz, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 168.0 (C7), 131.4 (C2), 127.0 (C1), 125.8 (C4), 118.8 (C5), 114.0 (C6), 106.9 (C3), 51.1 (C8), 18.1 (C9).
HR-MS:	Für C ₉ H ₉ BrN ₂ OH (M+H) ⁺ ber.: 240.9971 / 242.9951 gef.: 240.9977 / 242.9957
EA:	Für C ₉ H ₉ BrN ₂ O ber./gef. (%) N: 11.62 / 11.54 C: 44.84 / 44.99 H: 3.76 / 3.73
Smp.	138.0 °C

6.3.4 Verbindung 3.6

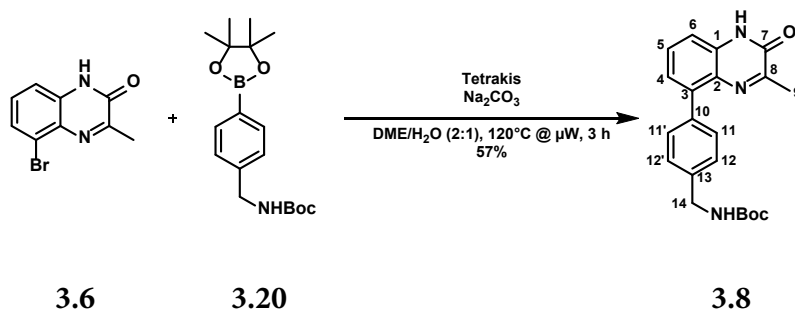


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.18	1.00	6.48	1.56	241.09		
35% H ₂ O ₂ (aq.)			0.86 mL/mmol			5.6
H ₂ O			0.50 mL/mmol			3.2
1 M NaOH (aq.)			10 mL/mmol			65

Eine Suspension von **3.18** (1.56 g, 6.48 mmol, 1.00 äq) in 1 M NaOH (aq., 65 mL) wurde tropfenweise mit einer Mischung aus 35% H₂O₂ (aq., 5.6 mL) und H₂O (3.2 mL) versetzt und anschließend für 7.5 h bei 60 °C gerührt. Anschließend wurde mit 1 M HCl (aq.) ein pH-Wert von ca. 2 eingestellt und der Ansatz mit EtOAc (4 x 150 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit Brine gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Aufreinigung mittels MPLC (14-30% EtOAc in CH über 1 h) wurden 1.05 g (4.41 mmol, 68%) des Produktes **3.6** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 12.42 (s, 1H, 1-NH), 7.56 (dd, ³ J = 7.9 Hz, ⁴ J = 1.3 Hz, 1H, 4-H), 7.36 (dd, ³ J = 8.0 Hz, 1H, 5-H), 7.27 (dd, ³ J = 8.2 Hz, ⁴ J = 1.3 Hz, 1H, 6-H), 2.44 (s, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 160.4 (C8), 154.7 (C7), 133.4 (C2), 130.1 (C5), 128.9 (C1), 126.6 (C4), 122.7 (C3), 115.2 (C6), 20.7 (C9).
HR-MS:	Für C ₉ H ₇ BrN ₂ OH (M+H) ⁺ ber.: 238.9815 / 240.9795 gef.: 238.9821 / 240.9801
EA:	Für C ₉ H ₇ BrN ₂ O ber./gef. (%) N: 11.72 / 11.85 C: 45.22 / 45.69 H: 2.95 / 3.02
Smp.	267.9 °C

6.3.5 Verbindung 3.8



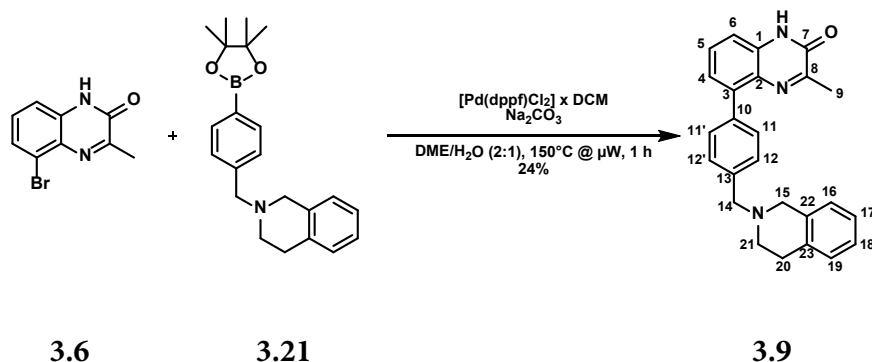
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.6	1.00	0.63	0.15	239.07		
3.20	1.20	0.75	0.25	333.24		
Na ₂ CO ₃	2.00	1.26	0.13	105.99		
Tetrakis	5 mol%	0.032	0.037	1155.59		
DME/H ₂ O (2:1)			11.5 mL/mmol			7.2

Durchführung nach AAV_3_SUZUKI-Kupplung

Nach Aufreinigung des Rohproduktes mittels MPLC (15-40% EtOAc in CH über 40 min, dann 40-50% über 10 min) wurden 0.13 g (0.36 mmol, 57%) des Produktes **3.8** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = Eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 12.34 (s, 1H, 1-NH), 7.53 - 7.50 (m, 3H, 5-H + 11/11'-H), 7.42 (t, ³ J = 5.9 Hz, 1H, 14-NH), 7.31 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.28 (dd, ³ J = 8.2 Hz, ⁴ J = 1.3 Hz, 1H, 4-H/6-H)*, 7.25 (dd, ³ J = 7.6 Hz, ⁴ J = 1.3 Hz, 1H, 4-H/6-H)*, 4.20 (d, ³ J = 5.7 Hz, 2H, 14-H ₂), 2.34 (s, 3H, 9-H ₃), 1.41 (s, 9H, Boc).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 158.3 (C8), 155.8 (CO _{Boc}), 154.5 (C7), 139.3 (C2/10/13)*, 139.2 (C2/10/13)*, 136.7 (C2/10/13)*, 132.5 (C3), 130.2 (2C, C11/11'), 129.2 (C5), 128.7 (C1), 126.3 (2C, C12/12'), 124.0 (C4), 114.6 (C6), 77.8 (C _q Boc), 43.2 (C14), 28.2 (CH ₃ Boc), 20.7 (C9).
HR-MS:	Für C ₂₁ H ₂₃ N ₃ O ₃ Na (M+Na) ⁺ ber.: 388.1632 gef.: 388.1628
Smp.	222.6 °C

6.3.6 Verbindung 3.9



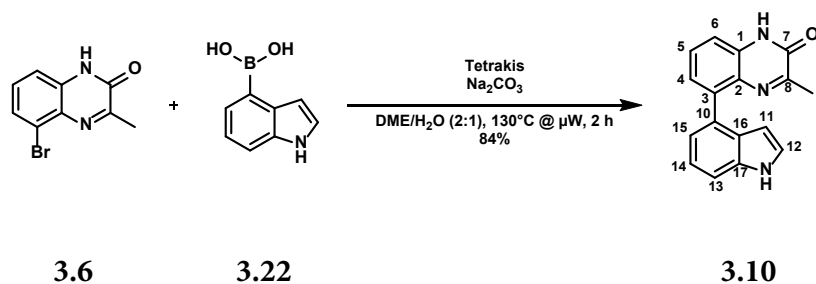
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.6	1.00	0.63	0.15	239.07		
3.21	1.20	0.75	0.13	173.41		
Na ₂ CO ₃	2.00	1.26	0.13	105.99		
[Pd(dppf)Cl ₂] x DCM	5 mol%	0.03	0.03	816.64		
DME/H ₂ O (2:1)			11.5 mL/mmol			7.2

Durchführung nach AAV_4_SUZUKI-Kupplung

Nach Aufreinigung des Rohproduktes mittels MPLC (20-50% EtOAc in CH über 35 min) wurden 58 mg (0.15 mmol, 24%) des Produktes **3.9** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 12.36 (s, 1H, 1-NH), 7.55 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 11/11'-H), 7.52 (dd, ³ J = 7.9 Hz, 1H, 5-H), 7.43 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.29 (d, ⁴ J = 1.2 Hz, 1H, 4-H/6-H)*, 7.28 (s, 1H, 4-H/6-H)*, 7.14 - 7.07 (m, 3H, H _{arom.}), 7.02 (d, ³ J = 6.9 Hz, 1H, H _{arom.}), 3.71 (s, 2H, 14-H ₂), 3.60 (s, 2H, 15-H ₂), 2.84 (dd, ³ J = 5.7 Hz, 2H, 20-H ₂ /21-H ₂)*, 2.73 (dd, ³ J = 5.9 Hz, 2H, 20-H ₂ /21-H ₂)*, 2.35 (s, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 158.3 (C8), 154.5 (C7), 139.2 (C _q arom.)*, 137.5 (C _q arom.)*, 137.0 (C _q arom.)*, 134.8 (C _q arom.)*, 134.1 (C _q arom.)*, 132.6 (C _q arom.)*, 130.3 (2C, C11/11'), 129.2 (C _{arom.})*, 128.7 (C _q arom.)*, 128.4 (C _{arom.}), 128.0 (2C, C12/12'), 126.3 (C _{arom.})*, 125.9 (C _{arom.})*, 125.4 (C _{arom.})*, 124.0 (C _{arom.})*, 114.6 (C6), 61.6 (C14), 55.5 (C15), 50.3 (C21), 28.7 (C20), 20.7 (C9).
HR-MS:	Für C ₂₅ H ₂₃ N ₃ OH (M+H) ⁺ ber.: 382.1914 gef.: 382.1905
EA:	Für C ₂₅ H ₂₃ N ₃ O ber./gef. (%) N: 11.02 / 10.70 C: 78.71 / 78.28 H: 6.08 / 6.07
Smp.	221.4 °C

6.3.7 Verbindung 3.10



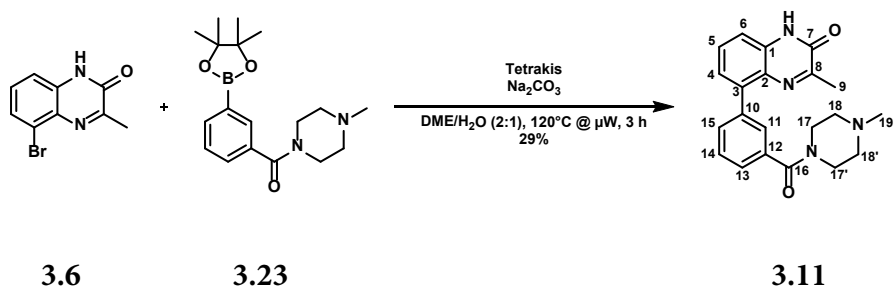
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.6	1.00	0.63	0.15	239.07		
3.22	1.20	0.76	0.12	160.97		
Na ₂ CO ₃	2.00	1.26	0.13	105.99		
Tetrakis	5 mol%	32 μM	0.04	1155.59		
DME/H ₂ O (2:1)			11.5 mL/mmol			7.2

Durchführung nach modifizierter AAV_3_SUZUKI-Kupplung (130 °C; 2 h)

Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (15-40% EtOAc in CH über 35 min) gereinigt, dabei wurden 0.15 g (0.53 mmol, 84%) des Produktes **3.10** als grauer Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 12.33 (s, 1H, 1-NH), 11.12 (s, 1H, 12-NH), 7.53 (dd, ³ J = 7.9 Hz, 1H, 5-H), 7.42 (d, ³ J = 8.0 Hz, 1H, 4-H/6-H)*, 7.33 - 7.30 (m, 3H, 12-H + 13-H + 15-H)*, 7.17 (dd, ³ J = 7.6 Hz, 1H, 14-H), 7.05 (d, ³ J = 7.2 Hz, 1H, 4-H/6-H)*, 6.12 (d, ³ J = 2.0 Hz, 1H, 11-H), 2.25 (s, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 157.8 (C8), 154.6 (C7), 139.6 (C2), 135.9 (C17), 132.5 (C1), 130.5 (C3), 129.3 (C16), 128.8 (C4/5)*, 127.5 (C10), 125.2 (C12), 124.7 (C4/5)*, 121.3 (C14/15)*, 120.4 (C14/15)*, 114.2 (C6), 110.6 (C13), 100.9 (C11), 20.5 (C9).
HR-MS:	Für C ₁₇ H ₁₃ N ₃ ONa (M+Na) ⁺ ber.: 298.0951 gef.: 298.0950
qNMR	Die Reinheit wurde mittels qNMR auf 97.7% bestimmt (Standard: Maleinsäure).
Smp.	Zersetzung > 300 °C

6.3.8 Verbindung 3.11



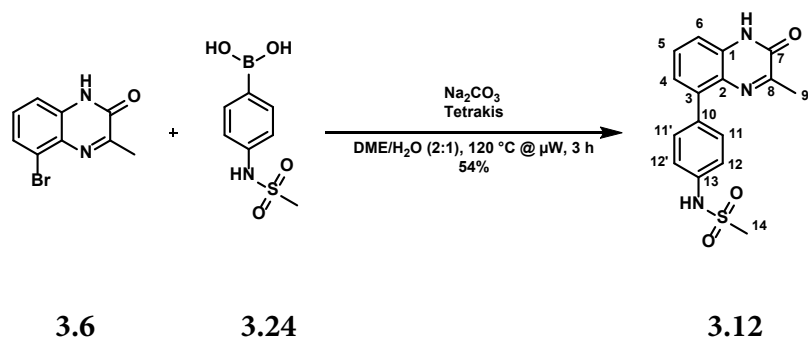
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.6	1.00	0.84	0.20	239.07		
3.23	1.20	1.01	0.33	330.24		
Na ₂ CO ₃	2.00	1.68	0.18	105.99		
Tetrakis	5 mol%	0.04	0.05	1155.59		
DME/H ₂ O (2:1)			11.5 mL/mmol			9.7

Durchführung nach AAV_3_SUZUKI-Kupplung

Das Rohprodukt wurde in 2 mL DMSO aufgenommen und mittels präparativer HPLC (Standard-Programm 5-95% MeCN in H₂O über 1 h) gereinigt, dabei wurden 87 mg (0.24 mmol, 29%) des Produktes **3.11** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich; H_{e/a} = H_{axial} oder H_{equatorial}; *¹ = Signale überlagern sich</p> <p>δ (ppm) = 12.38 (s, 1H, 1-NH), 7.62 (ddd, ³J = 7.7 Hz, ⁴J = 1.7, 1.4 Hz, 1H, 13-H), 7.56 - 7.52 (m, 3H, 5-H + 11-H + 14-H), 7.42 (ddd, ³J = 7.7 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, 1H, 15-H), 7.32 (dd, ³J = 8.5 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, 1H, 4-H/6-H)*, 7.30 (dd, ³J = 7.5 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, 1H, 4-H/6-H)*, 3.76 - 3.40 (m(b), 4H, 17/17'/18/18'-H_{e/a}), 2.43 - 2.24 (m(b), 4H, 17/17'/18/18'-H_{e/a})*¹, 2.33 (s, 3H, 9-H₃)*¹, 2.19 (s, 3H, 19-H₃).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich</p> <p>δ (ppm) = 168.7 (C16), 158.6 (C8), 154.6 (C7), 138.5 (C2/C10)*, 138.1 (C2/C10)*, 135.1 (C12), 132.6 (C3), 131.1 (C15), 129.3 (C5/C11)*, 128.9 (C5/C11)*, 128.6 (C1), 128.1 (C13), 126.1 (C4), 124.0 (C14), 115.1 (C6), 54.6 (2C, C18/18')*, 54.3 (2C, C17/17')*, 45.5 (C19), 20.8 (C9).</p>
HR-MS:	<p>Für C₂₁H₂₂N₄O₂H (M+H)⁺</p> <p>ber.: 363.1816</p> <p>gef.: 363.1818</p>
EA:	<p>Für C₂₁H₂₂N₄O₂ x 0.5 H₂O ber./gef. (%)</p> <p>N: 15.08 / 15.06</p> <p>C: 67.91 / 67.68</p> <p>H: 6.24 / 6.19</p>
Smp.	104.3 °C

6.3.9 Verbindung 3.12



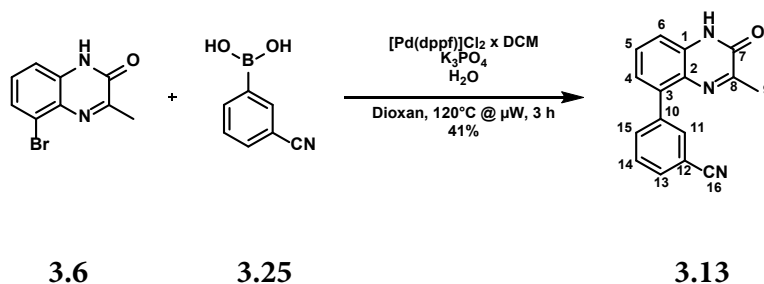
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	V [mL]
3.6	1.00	0.63	0.15	239.07	
3.24	1.20	0.75	0.17	223.12	
Na ₂ CO ₃	2.00	1.26	0.13	105.99	
Tetrakis	5 mol%	0.032	0.037	1155.59	
DME/H ₂ O (2:1)		11.5 mL/mmol			7.2

Durchführung nach AAV_3_SUZUKI-Kupplung

Nach Aufreinigung des Rohproduktes mittels MPLC (0-10% MeOH in DCM über 30 min) wurden 0.11 g (0.34 mmol, 54%) des Produktes **3.12** als gelblicher Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 12.33 (s, 1H, 1-NH), 9.84 (s, 1H, 13-NH), 7.56 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 11/11'-H), 7.51 (dd, ³ J = 7.9 Hz, 1H, 5-H), 7.28 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.28 - 7.25 (m, 2H, 4-H/6-H), 3.06 (s, 3H, 14-H ₃), 2.35 (s, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 158.2 (C8), 154.5 (C7), 138.7 (C13), 137.6 (C2), 133.6 (C10), 132.6 (C3), 131.3 (2C, C11/11'), 129.2 (C5), 128.6 (C1), 123.9 (C4), 118.8 (2C, C12/12'), 114.5 (C6), 39.5 (C14), 20.7 (C9).
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₁₅ N ₃ O ₃ SH (M+H) ⁺ ber.: 330.0907 gef.: 330.0910
EA:	Für C ₁₆ H ₁₅ N ₃ O ₃ S x 0.5 H ₂ O ber./gef. (%) N: 12.42 / 12.34 C: 56.79 / 57.04 H: 4.77 / 4.78
Smp.	Zersetzung bei < 250 °C

6.3.10 Verbindung 3.13

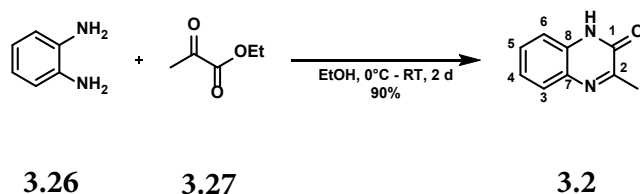


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.6	1.00	0.63	0.15	239.07		
3.25	1.20	0.75	0.11	146.94		
K ₃ PO ₄	3.00	1.89	0.40	212.28		
[Pd(dppf)Cl ₂]	4 mol%	0.03	0.02	816.64		
x DCM						
H ₂ O	5.00	3.15	0.06	18.02	1.00	57 μL
Dioxan			4 mL/mmol			2.5

3.6 (0.15 g, 0.63 mmol, 1.00 äq), **3.25** (0.11 g, 0.75 mmol, 1.20 äq), K₃PO₄ (0.40 g, 1.89 mmol, 3.00 äq) und [Pd(dppf)Cl₂] x DCM (0.02 g, 0.03 mmol, 4 mol%) wurden in Dioxan (2.5 mL) suspendiert und durch Anlegen von Vakuum und nachfolgendes Spülen mit Argon entgast (3 Zyklen). Daraufhin wurde der Ansatz für 3 h in der Mikrowelle (120 °C, 300 W) gerührt, anschließend in EtOAc (30 mL) aufgenommen und über Celite filtriert. Die organische Phase wurde mit H₂O (20 mL) und Brine (20 mL) gewaschen sowie über MgSO₄ getrocknet, im Anschluss wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-10% MeOH in DCM über 30 min) gereinigt, dabei wurden 67 mg (0.26 mmol, 41%) des Produktes **3.13** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 12.40 (s, 1H, 1-NH), 8.00 (dd, ⁴ J = 1.4 Hz, 1H, 11-H), 7.91 (ddd, ³ J = 8.0 Hz, ⁴ J = 1.5 Hz, 1H, 13-H/15-H)*, 7.85 (ddd, ³ J = 8.0 Hz, ⁴ J = 1.3 Hz, 1H, 13-H/15-H)*, 7.67 (dd, ³ J = 7.7 Hz, 1H, 5-H), 7.56 (dd, ³ J = 7.9 Hz, 1H, 14-H), 7.35 - 7.33 (m, 2H, 4-H + 6-H), 2.35 (s, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 159.0 (C8), 154.5 (C7), 139.3 (C3), 137.0 (C10), 135.2 (C13), 133.7 (C15), 132.6 (C2), 131.0 (C11), 129.3 (C5/C14)*, 128.9 (C5/C14)*, 128.5 (C1), 124.0 (C4), 118.8 (C16), 115.6 (C6), 110.9 (C12), 20.8 (C9).
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₁₁ N ₃ OH (M+H) ⁺ ber.: 262.0975 gef.: 262.0976
EA:	Für C ₁₆ H ₁₁ N ₃ O x 0.25 H ₂ O ber./gef. (%) N: 15.81 / 15.83 C: 72.30 / 72.66 H: 4.36 / 4.29
Smp.	> 300 °C

6.3.11 Verbindung 3.2

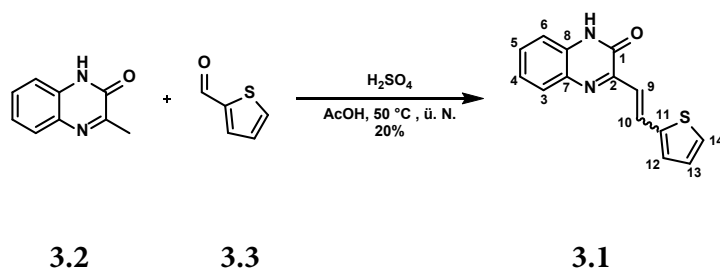


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
<i>o</i> -Phenyldiamin	1.00	30.0	3.24	108.14		
Ethylpyruvat	1.20	36.0	4.18	116.12	1.04	4.00
EtOH _{abs.}			2.3 mL/mmol			68

Eine Suspension von *o*-Phenyldiamin (**3.26**, 3.24 g, 30.0 mmol, 1.00 äq) in EtOH_{abs.} (60 mL) wurde bei 0 °C mit einer Lösung von Ethylpyruvat (**3.27**, 4.00 mL, 36.0 mmol, 1.20 äq) in EtOH_{abs.} (8 mL) versetzt und für 2 d bei RT gerührt. Anschließend wurde der Ansatz filtriert, der Niederschlag mit EtOH (2 x 20 mL) gewaschen und im Vakuum getrocknet, dabei wurden 4.30 g (26.9 mmol, 90%) des Produktes **3.2** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 12.26 (s, 1H, 1-NH), 7.68 (dd, ³ J = 7.9 Hz, ⁴ J = 1.3 Hz, 1H, 6-H), 7.45 (ddd, ³ J = 7.6 Hz, ⁴ J = 1.4 Hz, 1H, 4-H/5-H)*, 7.31 - 7.21 (m, 2H, 3-H + 4-H/5-H)*, 2.40 (s, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 159.1 (C2), 154.9 (C1), 131.9 (C7/C8)*, 131.6 (C7/C8)*, 129.2 (C4), 127.8 (C3), 122.9 (C5), 115.2 (C6), 20.4 (C9).
HR-MS:	Für C ₉ H ₈ N ₂ OH (M+H) ⁺ ber.: 161.0709 gef.: 161.0714
EA:	Für C ₉ H ₈ N ₂ O ber./gef. (%) N: 17.49 / 17.25 C: 67.49 / 67.28 H: 5.03 / 4.94
Smp.	250.2 °C

6.3.12 Verbindung 3.1

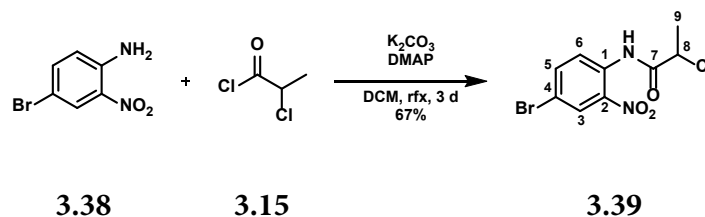


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.2	1.00	2.50	0.40	160.18		
Thiophen-2-carbaldehyd	1.20	3.00	0.34	112.15	1.20	0.28
H ₂ SO ₄ conc.			2 Tr./ mmol (cat.)			5 Tr.
AcOH			4 mL/mmol			10

Eine Lösung von **3.2** (0.40 g, 2.50 mmol, 1.00 äq) in AcOH (10 mL) wurde mit Thiophen-2-carbaldehyd (**3.3**, 0.28 mL, 3.00 mmol, 1.20 äq) und H₂SO₄ conc. (5 Tr.) versetzt und anschließend ü. N. bei 50 °C gerührt. Im Anschluss wurde der Ansatz in 2 M K₂CO₃ (aq., 20 mL) aufgenommen und mit EtOAc (3 x 30 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit sat. NaHCO₃ (aq., 30 mL) und Brine (30 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-30% EtOAc in CH über 40 min) gereinigt, dabei wurde 0.12 g (0.49 mmol, 20%) des Produktes **3.1** (*trans*-Isomer Hauptprodukt, *cis* ebenfalls enthalten laut ¹H-NMR, Verhältnis *trans/cis* ca. 25/1) als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); Es wird der Signalsatz des Hauptproduktes (<i>trans</i>) angegeben, da das <i>cis</i> -Produkt nur in Spuren (s. Signal bei 6.92 ppm) enthalten war und deshalb kein vollständiger Signalsatz identifiziert werden konnte. * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 12.47 (s, 1H, 1-NH), 8.23 (d, $^3J_{\text{trans}} = 15.8$ Hz, 1H, 10-H), 7.74 (dd, $^3J = 8.3$ Hz, $^4J = 1.4$ Hz, 1H, 6-H), 7.65 (d, $^3J = 5.2$ Hz, 1H, 12-H/14-H)*, 7.50 - 7.46 (m, 2H, 4-H/5-H + 12-H/14-H)*, 7.32 - 7.28 (m, 3H, 3-H + 9-H + 4-H/5-H)*, 7.15 (dd, $^3J = 5.0, 3.6$ Hz, 1H, 13-H).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 154.6 (C2), 152.5 (C1), 141.5 (C11), 132.4 (C7/C8)*, 131.5 (C7/C8)*, 130.4 (C10), 130.1 (C12/C14)*, 129.6 (C4), 128.5 (C12/C14)*, 128.2 (2C, C3 + C13), 123.5 (C5), 120.9 (C9), 115.2 (C6).
HR-MS:	Für C ₁₄ H ₁₀ N ₂ OSNa (M+Na) ⁺ ber.: 277.0406 gef.: 277.0407
EA:	Für C ₁₄ H ₁₀ N ₂ OS ber./gef. (%) N: 11.02 / 10.90 C: 66.12 / 66.23 H: 3.96 / 4.09
Smp.	243.5 °C

6.3.13 Verbindung 3.39

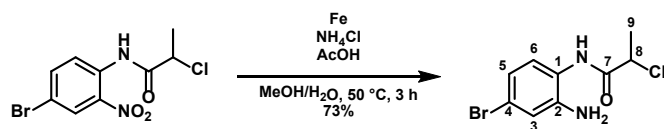


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4-Brom-2-nitroanilin	1.00	23.0	5.00	217.02		
K ₂ CO ₃	1.50	34.6	4.78	138.20		
2-Chlorpropionylchlorid	2.00 + 2 x 0.50	46.0 + 2 x 11.5	5.84 + 2 x 1.46	126.96	1.21	4.5 + 2 x 1.1
DMAP	0.05	1.15	0.14	122.17		
DCM			10 mL/mmol			230

Zu einer Lösung von 4-Brom-2-nitroanilin (**3.38**, 5.00 g, 23.0 mmol, 1.00 äq), K₂CO₃ (4.78 g, 34.6 mmol, 1.50 äq) und DMAP (0.14 g, 1.15 mmol, 0.05 äq) in DCM (150 mL) wurde 2-Chlorpropionylchlorid (**3.15**, 4.5 mL, 46.0 mmol, 2.00 äq) in DCM (80 mL) bei RT langsam zugetropft. Anschließend wurde die Lösung über Nacht unter rfx gerührt. An den darauffolgenden Tagen wurde morgens jeweils 2-Chlorpropionylchlorid (1.1 mL, 11.5 mmol, 1.00 äq) zugetropft und erneut über Nacht unter rfx gerührt, bis laut DC kein Edukt mehr vorhanden war (3 d). Daraufhin wurde der Ansatz für 30 min bei RT gerührt, filtriert und mit H₂O (230 mL) versetzt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit DCM (4 x 100 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit 1 M HCl (aq., 100 mL), sat. NaHCO₃ (aq., 100 mL) und Brine (100 mL) gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer und Umkristallisieren aus CH wurden 4.69 g (15.1 mmol, 67%) des Produktes **3.39** als goldgelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 10.71 (s, 1H, 1-NH), 8.20 (d, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 3-H), 7.94 (dd, ³ J = 8.9 Hz, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 5-H), 7.68 (d, ³ J = 8.6 Hz, 1H, 6-H), 4.77 (q, ³ J = 6.8 Hz, 1H, 8-H), 1.62 (d, ³ J = 6.9 Hz, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 167.7 (C7), 142.7 (C2), 136.8 (C6), 129.9 (C1), 127.5 (C3/5)*, 127.1 (C3/5)*, 116.9 (C4), 54.2 (C8), 21.0 (C9).
HR-MS (APCI):	Für C ₉ H ₇ BrClN ₂ O ₃ (M-H) ⁻ ber.: 304.9334 / 306.9312 gef.: 304.9329 / 306.9307
EA:	Für C ₉ H ₈ BrClN ₂ O ₃ ber./gef. (%) N: 9.11 / 9.11 C: 35.15 / 35.16 H: 2.62 / 2.64
Smp.	98.2 °C

6.3.14 Verbindung 3.40

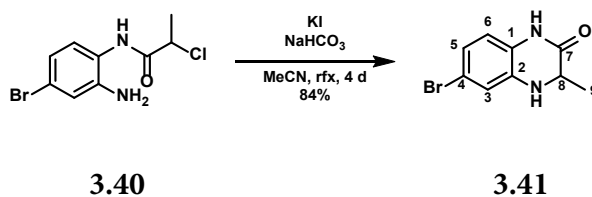
**3.39****3.40**

	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.39	1.00	10.0	3.08	307.53		
Eisenpulver	10.0	100	5.59	55.85		
NH ₄ Cl	0.50	5.00	0.27	53.49		
AcOH			0.13 mL/mmol			1.3
MeOH			5.0 mL/mmol			50
H ₂ O			5.0 mL/mmol			50

Eisenpulver (5.59 g, 10.0 mmol, 1.00 äq) und NH₄Cl (0.27 g, 5.00 mmol, 0.50 äq) wurden in einer Mischung aus AcOH (1.3 mL) und H₂O (50 mL) bei 50 °C für 15 min mit einem mechanischen Rührwerk vorgerührt. Dann wurde eine Lösung von **3.39** (3.08 g, 10.0 mmol, 1.00 äq) in MeOH (50 mL) über einen Zeitraum von 15 min zugetropft und der Ansatz für weitere 3 h bei 50 °C gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf RT abgekühlt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in MeOH (150 mL) resuspendiert, über ein Celite-Pad filtriert und mit MeOH (100 mL) nachgespült. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in EtOAc aufgenommen, auf eine kurze Filtersäule aus Silica gegeben und mit EtOAc eluiert. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt mittels MPLC (0-10% MeOH in DCM über 33 min) gereinigt, wobei 2.03 g (7.31 mmol, 73%) des Produktes **3.40** als farbloser Feststoff erhalten wurden.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 9.44 (s, 1H, 1-NH), 7.13 (d, ³ J = 8.6 Hz, 1H, 6-H), 6.92 (d, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 3-H), 6.69 (dd, ³ J = 8.3 Hz, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 5-H), 5.17 (s(b), 2H, 2-NH ₂), 4.70 (q, ³ J = 6.6 Hz, 1H, 8-H), 1.62 (d, ³ J = 6.6 Hz, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 167.7 (C7), 144.0 (C2), 127.1 (C6), 121.5 (C1), 118.6 (C4), 118.3 (C3/5)*, 117.5 (C3/5)*, 54.5 (C8), 21.2 (C9).
HR-MS:	Für C ₉ H ₁₀ BrClN ₂ ONa (M+Na)+ ber.: 298.9557 / 300.9534 gef.: 298.9561 / 300.9538
EA:	Für C ₉ H ₁₀ BrClN ₂ O ber./gef. (%) N: 10.09 / 10.09 C: 38.95 / 39.02 H: 3.63 / 3.64
Smp.	159.6 °C

6.3.15 Verbindung 3.41

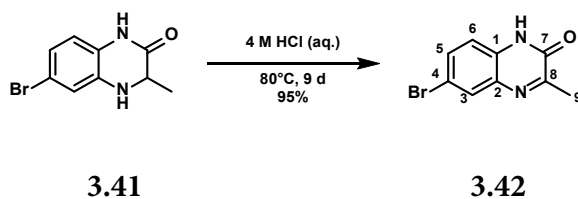


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.40	1.00	7.81	2.17	277.55		
NaHCO ₃	1.65	12.9	1.08	84.01		
KI	0.50	3.91	0.65	166.00		
MeCN			15 mL/mmol			117

Eine Lösung von **3.40** (2,17 g, 7.81 mmol, 1.00 äq) in MeCN (117 mL) wurde mit NaHCO₃ (1.08 g, 12.89 mmol, 1.65 äq) und KI (0.65 g, 3.91 mmol, 0.50 äq) versetzt und für 4 Tage unter rfx gerührt. Nach Ablauf der Zeit wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in EtOAc (300 mL) aufgenommen und mit H₂O (2 x 100 mL) und Brine (100 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (5-30% EtOAc in CH über 40 min) gereinigt, dabei wurden 1.56 g (6.47 mmol, 84%) des Produktes **3.41** als gelblicher Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 10.27 (s, 1H, 1-NH), 6.82 (d, ⁴ J = 1.7 Hz, 1H, 3-H), 6.73 (dd, ³ J = 8.3 Hz, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 5-H), 6.65 (d, ³ J = 8.3 Hz, 1H, 6-H), 6.25 (s, 1H, 2-NH), 3.81 (dq, ³ J = 6.6 Hz, ⁴ J = 1.6 Hz, 1H, 8-H), 1.25 (d, ³ J = 6.9 Hz, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 167.9 (C7), 136.1 (C2), 125.5 (C1), 119.9 (C6), 116.1 (C3/5)*, 115.4 (C3/5)*, 114.1 (C4), 50.5 (C8), 17.6 (C9).
HR-MS:	Für C ₉ H ₉ BrN ₂ ONa (M+Na) ⁺ ber.: 262.9790 / 264.9771 gef.: 262.9797 / 264.9777
EA:	Für C ₉ H ₉ BrN ₂ O ber./gef. (%) N: 11.62 / 11.52 C: 44.84 / 44.90 H: 3.76 / 3.78
Smp.	128.8 °C

6.3.16 Verbindung 3.42

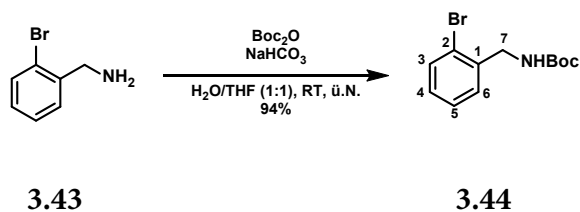


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.41	1.00	12.4	3.00	241.09		
4 M HCl (aq.)			10 mL/mmol			124

Eine Suspension von **3.41** (3.00 g, 12.4 mmol, 1.00 äq) in 4 M HCl (aq., 124 mL) wurde für 9 d bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wurde der Ansatz mit EtOAc extrahiert (3 x 200 mL), die vereinigte organische Phase mit sat. NaHCO₃ (aq., 200 mL) und Brine (100 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Dabei wurden 2.82 g (11.8 mmol, 95%) des Produktes **3.42** als rötlicher Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 12.37 (s, 1H, 1-NH), 7.84 (d, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 3-H), 7.60 (dd, ³ J = 8.7 Hz, ⁴ J = 2.1 Hz, 1H, 5-H), 7.20 (d, ³ J = 8.6 Hz, 1H, 6-H), 2.40 (s, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 160.8 (C8), 154.6 (C7), 132.6 (C1/2)*, 131.8 (C3/5)*, 131.2 (C1/2)*, 129.8 (C3/5)*, 117.1 (C6), 114.2 (C4), 20.5 (C9).
HR-MS:	Für C ₉ H ₇ BrN ₂ OH (M+H) ⁺ ber.: 238.9815 / 240.9795 gef.: 238.9820 / 240.9800
EA:	Für C ₉ H ₇ BrN ₂ O ber./gef. (%) N: 11.72 / 11.60 C: 45.22 / 45.44 H: 2.95 / 3.00
Smp.	250.7 °C

6.3.17 Verbindung 3.44



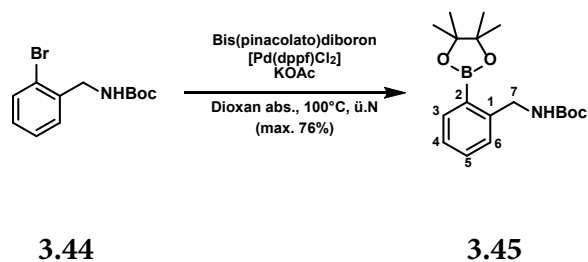
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
2-Brombenzylamin	1.00	10.0	1.86	186.05		
Boc ₂ O	1.20	12.0	2.62	218.25		
NaHCO ₃	2.00	20.0	1.68	84.01		
H ₂ O/THF (1:1)			2 mL/mmol			20

Durchführung nach AAV_1_Boc-Schützung

Nach Aufreinigung des Rohproduktes mittels MPLC (CH/EtOAc, 0-10% über 35 min) wurden 2.69 g (9.41 mmol, 94%) des Produktes **3.44** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 7.58 (dd, ³ J = 8.0 Hz, ⁴ J = 1.2 Hz, 1H, 3-H), 7.41 (t, ³ J = 6.0 Hz, 1H, 7-NH), 7.38 (dd, ³ J = 7.4, 7.5 Hz, 1H, 4-H), 7.29 (d, ³ J = 7.5 Hz, 1H, 6-H), 7.20 (ddd, ³ J = 7.6 Hz, ⁴ J = 1.7 Hz, 1H, 5-H), 4.16 (d, ³ J = 6.0 Hz, 2H, 7-H ₂), 1.41 (s, 9H, Boc).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutiges Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 155.7 (CO _{Boc}), 138.4 (C1), 132.2 (C6), 128.6 (C3/4/5)*, 128.1 (C3/4/5)*, 127.6 (C3/4/5)*, 121.9 (C2), 78.0 (C _q Boc), 43.7 (C7), 28.2 (CH ₃ Boc).
HR-MS:	Für C ₁₂ H ₁₆ BrNO ₂ Na (M+Na) ⁺ ber.: 308.0257 / 310.0237 gef.: 308.0255 / 310.0235
EA:	Für C ₁₂ H ₁₆ BrNO ₂ ber./gef. (%) N: 4.89 / 4.86 C: 50.37 / 50.46 H: 5.64 / 5.54
Smp.	51.5 °C

6.3.18 Verbindung 3.45



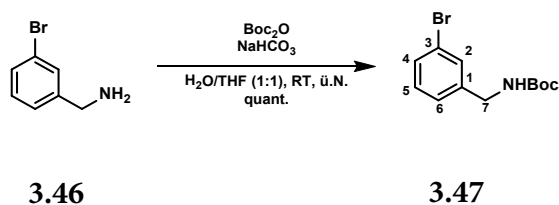
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.44	1.00	2.00	0.48	242.12		
Bis(pinacolato)- diboron	1.00	2.00	0.51	253.94		
[Pd(dppf)Cl ₂]	10 mol%	0.20	0.15	731.70		
KOAc	2.00	4.00	0.39	98.15		
Dioxan			5.0 mL/mmol			10.0

Durchführung nach AAV_2_Borylierung

Nach Reinigung des Rohproduktes mittels Flash-Chromatographie (CH/EtOAc 2:1) wurden 0.52 g (1.55 mmol, max. 76%) des noch leicht verunreinigten Produktes **3.45** als bräunlicher Feststoff erhalten. Dieses wurde ohne weitere Aufreinigung im nächsten Schritt umgesetzt.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 7.65 (dd, ³ J = 7.5 Hz, ⁴ J = 1.2 Hz, 1H, 3-H), 7.44 (ddd, ³ J = 7.5 Hz, ⁴ J = 1.3 Hz, 1H, 5-H), 7.26 (d, ³ J = 7.7 Hz, 1H, 6-H), 7.22 (dd, ³ J = 7.3 Hz, 1H, 4-H), 7.11 (t, ³ J = 5.9 Hz, 1H, 7-NH), 4.38 (d, ³ J = 6.0 Hz, 2H, 7-H ₂), 1.40 (s, 9H, Boc), 1.32 (s, 12H, Pinakol).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); Signal für C2 fehlt; * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 155.7 (CO _{Boc}), 146.0 (C1), 135.4 (C3), 131.0 (C5), 125.8 (C4/C6)*, 125.7 (C4/C6)*, 83.4 (C _q Pinakol), 77.6 (C _q Boc), 43.0 (C7), 28.2 (3C, CH ₃ Boc), 24.6 (4C, CH ₃ Pinakol).
HR-MS:	Für C ₁₈ H ₂₈ BNO ₄ Na (M+Na) ⁺ ber.: 356.2007 gef.: 356.1999
Smp.	69.6 °C

6.3.19 Verbindung 3.47



	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3-Brombenzylamin	1.00	10.0	1.86	186.05	1.48	1.3
Boc ₂ O	1.20	12.0	2.62	218.25		
NaHCO ₃	2.00	20.0	1.68	84.01		
H ₂ O/THF (1:1)			2 mL/mmol			20

Durchführung nach AAV_1_Boc-Schützung

Nach Aufreinigung des Rohproduktes mittels MPLC (0-15% EtOAc in CH über 30 min) wurden 2.96 g (10.3 mmol, quant.) des Produktes **3.47** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 7.46 - 7.38 (m, 3H, 2 H _{arom.} + 7-NH), 7.30 - 7.19 (m, 2H, H _{arom.}), 4.12 (d, ³ J = 6.3 Hz, 2H, 7-H ₂), 1.39 (s, 9H, Boc).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 155.7 (CO _{Boc}), 143.0 (C1), 130.4 (C2/5/6)*, 129.6 (C2/5/6)*, 129.4 (C2/5/6)*, 125.9 (C4), 121.5 (C3), 77.9 (C _q Boc), 42.8 (C7), 28.2 (3C, CH ₃ Boc).
HR-MS:	Für C ₁₂ H ₁₆ BrNO ₂ Na (M+Na) ⁺ ber.: 308.0257 / 310.0237 gef.: 308.0257 / 310.0236
EA:	Für C ₁₂ H ₁₆ BrNO ₂ ber./gef. (%) N: 4.89 / 4.90 C: 50.37 / 50.39 H: 5.64 / 5.65
Smp.	53.9 °C

6.3.20 Verbindung 3.48



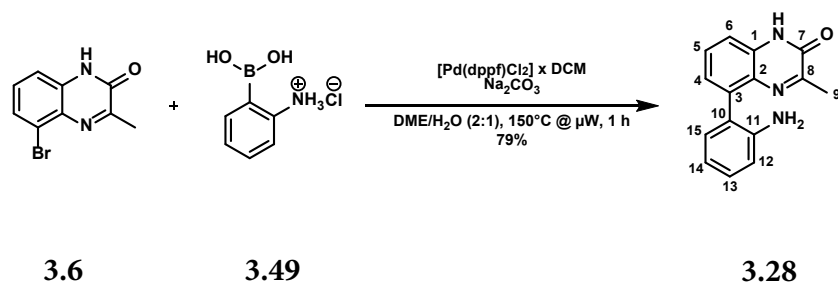
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.47	1.00	4.13	1.00	242.12		
Bis(pinacolato)- diboron	1.00	4.13	1.05	253.94		
[Pd(dppf)Cl ₂]	10 mol%	0.41	0.30	731.70		
KOAc	2.00	8.26	0.81	98.15		
Dioxan			3.7 mL/mmol			15 + 5

Durchführung nach AAV_2_Borylierung

Nach Aufreinigung des Rohproduktes mittels MPLC (0-20% EtOAc in CH über 30 min) wurden 1.15 g (3.44 mmol, 83%) des Produktes **3.48** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 7.58 (s, 1H, 2-H), 7.53 (d, ³ J = 6.9 Hz, 1H, 4-H/6-H)*, 7.38 - 7.28 (m, 3H, 2 H _{arom.} + 7-NH), 4.12 (d, ³ J = 6.0 Hz, 2H, 7-H ₂), 1.39 (s, 9H, Boc), 1.29 (s, 12H, CH ₃ Pinacol).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); Signal für C3 fehlt, * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 155.8 (CO _{Boc}), 139.5 (C3), 133.0 (C2/C6)*, 132.6 (C2/C6)*, 130.1 (C5), 127.7 (C4), 83.5 (2C, C _q Pinacol), 77.7 (C _q Boc), 43.3 (C7), 28.2 (3C, CH ₃ Boc), 24.6 (4C, CH ₃ Pinacol).
HR-MS:	Für C ₁₈ H ₂₈ BNO ₄ Na (M+Na) ⁺ ber.: 356.2007 gef.: 356.2007
EA:	Für C ₁₈ H ₂₈ BNO ₄ ber./gef. (%) N: 4.20 / 4.09 C: 64.88 / 64.55 H: 8.47 / 8.05
Smp.	100.3 °C

6.3.21 Verbindung 3.28



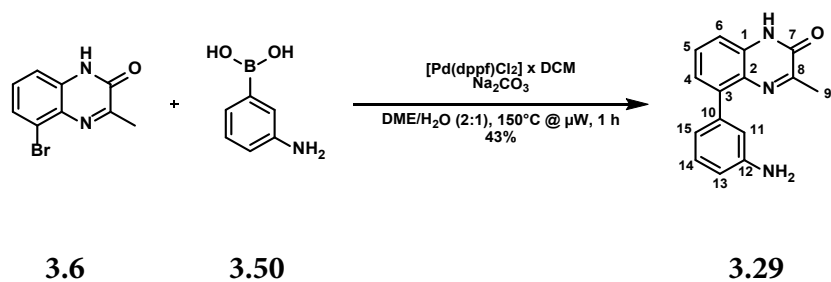
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.6	1.00	0.63	0.15	239.07		
3.49	1.20	0.75	0.13	173.41		
Na ₂ CO ₃ anhyd.	2.50	1.58	0.17	105.99		
[Pd(dppf)Cl ₂] x 5 mol%		0.03	0.03	816.64		
DCM						
DME/H ₂ O (2:1)			11.5 mL/mmol			7.2

Durchführung nach AAV_1_SUZUKI-Kupplung

Nach Aufreinigung des Rohproduktes mittels MPLC (0-5% MeOH in DCM über 20 min) wurden 0.13 g (0.50 mmol, 79%) des Produktes **3.28** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 12.29 (s, 1H, 1-NH), 7.50 (dd, 3J = 7.7 Hz, 1H, 5-H), 7.28 (dd, 3J = 7.9 Hz, 4J = 1.2 Hz, 1H, 15-H), 7.11 - 7.06 (m, 2H, 4-H + 6-H), 6.95 (dd, 3J = 7.6 Hz, 4J = 1.3 Hz, 1H, 13-H), 6.74 (d, 3J = 7.5 Hz, 1H, 12-H), 6.63 (dt, 3J = 7.5 Hz, 4J = 0.9 Hz, 1H, 14-H), 4.50 (s, 2H, 11-NH ₂), 2.30 (s, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 158.5 (C8), 154.7 (C7), 146.1 (C11), 138.6 (C3), 132.5 (C2), 130.9 (C13), 129.6 (C1), 129.2 (C5), 128.1 (C15), 124.9 (C4), 124.3 (C10), 115.9 (C6/12/14)*, 115.0 (C6/12/14)*, 114.5 (C6/12/14)*, 20.7 (C9).
HR-MS:	Für C ₁₅ H ₁₃ N ₃ OH (M+H) ⁺ ber.: 252.1131 gef.: 252.1126
Reinheit:	Die Reinheit wurde mittels qNMR (DMSO-d ₆ , Maleinsäure) auf 93.9% bestimmt.
Smp.	Zersetzung bei > 250 °C

6.3.22 Verbindung 3.29



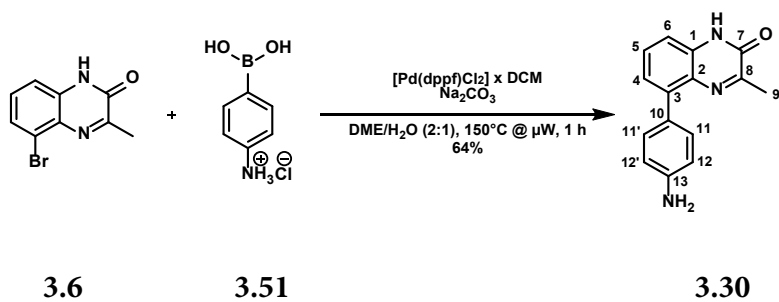
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.6	1.00	0.63	0.15	239.07		
3.50	1.20	0.75	0.10	136.95		
Na ₂ CO ₃	2.50	1.58	0.17	105.99		
[Pd(dppf)Cl ₂]	5 mol%	0.03	0.03	816.64		
x DCM						
DME/H ₂ O (2:1)			11.5 mL/mmol			7.2

Durchführung nach AAV_1_ SUZUKI-Kupplung

Nach Aufreinigung des Rohproduktes mittels MPLC (30-50% EtOAc in CH über 30 min, dann 50-70% über 20 min) wurden 67 mg (0.27 mmol, 43%) des Produktes **3.29** als beiger Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 12.31 (s, 1H, 1-NH), 7.48 (dd, 3J = 8.0, 7.9 Hz, 1H, 5-H), 7.25 (d, 3J = 8.0 Hz, 1H, 4-H/6-H)*, 7.18 (d, 3J = 7.2 Hz, 1H, 4-H/6-H)*, 7.07 (dd, 3J = 8.0, 7.9 Hz, 1H, 14-H), 6.75 (s, 1H, 11-H), 6.67 (d, 3J = 7.5 Hz, 1H, 13-H), 6.59 (dd, 3J = 8.0 Hz, 4J = 1.4 Hz, 1H, 15-H), 5.05 (s, 2H, 12-NH ₂), 2.35 (s, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 158.0 (C8), 154.5 (C7), 148.0 (C12), 140.5 (C2), 139.1 (C10), 132.4 (C3), 129.0 (C14), 128.8 (C1), 128.0 (C5), 123.9 (C4), 118.2 (C6), 116.0 (C15), 114.2 (C13), 112.9 (C11), 20.7 (C9).
HR-MS:	Für C ₁₅ H ₁₃ N ₃ OH (M+H) ⁺ ber.: 252.1131 gef.: 252.1129
Reinheit:	Die Reinheit wurde mittels qNMR (DMSO-d ₆ , Maleinsäure) auf 93.5% bestimmt.
Smp.	Zersetzung bei > 210 °C

6.3.23 Verbindung 3.30



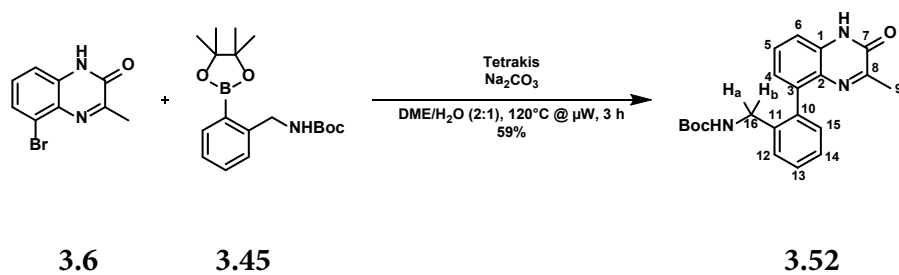
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.6	1.00	0.42	0.10	239.07		
3.51	1.20	0.50	0.09	173.40		
Na ₂ CO ₃ anhyd.	2.50	1.05	0.11	105.99		
[Pd(dppf)Cl ₂] x DCM	5 mol%	0.02	0.02	816.64		
DME/H ₂ O (2:1)			11.5 mL/mmol			4.8

Durchführung nach AAV_1_ SUZUKI-Kupplung

Die Aufreinigung des Rohproduktes mittels MPLC (15-50% EtOAc in CH über 30 min) ergab 68 mg (0.27 mmol, 64%) des Produktes **3.30** als gelben Feststoff.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 12.25 (s, 1H, 1-NH), 7.47 (dd, 3J = 7.7 Hz, 1H, 4-H), 7.29 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, 11/11'-H), 7.19 (dd, 3J = 7.5 Hz, 4J = 1.4 Hz, 1H, 4-H/6-H), 7.16 (dd, 3J = 8.2 Hz, 4J = 1.3 Hz, 1H, 4-H/6-H), 6.63 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, 12/12'-H), 5.19 (s, 2H, 13-N2), 2.35 (s, 3H, 9-H3).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 157.4 (C8), 154.5 (C7), 148.1 (C13), 140.0 (C2), 132.6 (C3), 131.1 (2C, C11/11'), 129.1 (C5), 128.7 (C1), 125.5 (C10), 123.3 (C4), 113.1 (3C, C12/12' + C6), 20.7 (C9).
HR-MS:	Für C ₁₅ H ₁₃ N ₃ OH (M+H) ⁺ ber.: 252.1131 gef.: 252.1129
EA:	Für C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ber./gef. (%) N: 16.72 / 16.39 C: 71.70 / 71.66 H: 5.21 / 5.30
Smp.	Zersetzung bei > 220 °C

6.3.24 Verbindung 3.52



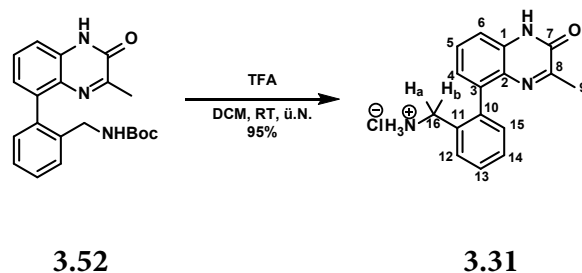
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.6	1.00	0.63	0.15	239.07		
3.45	1.20	0.75	0.25	333.24		
Na ₂ CO ₃	2.00	1.26	0.13	105.99		
Tetrakis	5 mol%	0.032	0.037	1155.59		
DME/H ₂ O (2:1)			11.5 mL/mmol			7.2

Durchführung nach AAV_3_ SUZUKI-Kupplung

Nach Aufreinigung des Rohproduktes mittels MPLC (CH/EtOAc, 15-40% über 35 min) wurden 0.13 g (0.37 mmol, 59%) des Produktes **3.52** als gelblicher Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 12.36 (s, 1H, 1-NH), 7.52 (dd, ³ J = 7.9 Hz, 1H, 5-H), 7.40 - 7.35 (m, 2H, 13-H + 14-H), 7.32 (dd, ³ J = 8.2 Hz, ⁴ J = 1.3 Hz, 1H, 4-H/6-H)*, 7.29 (dd, ³ J = 6.9 Hz, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 12-H/15-H)*, 7.16 (dd, ³ J = 7.3 Hz, ⁴ J = 0.9 Hz, 1H, 4-H/6-H)*, 7.10 (d, ³ J = 6.9 Hz, 1H, 12-H/15-H)*, 6.98 (t, ³ J = 5.7 Hz, 1H, 16-NH), 3.93 (dd, ² J = 15.8 Hz, ³ J = 6.0 Hz, 1H, 16-H _a), 3.82 (dd, ² J = 15.6 Hz, ³ J = 5.9 Hz, 1H, 16-H _b), 2.28 (s, 3H, 9-H ₃), 1.32 (s, 9H, Boc).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 158.6 (C8), 155.4 (CO _{Boc}), 154.6 (C7), 139.1 (C2/10/11)*, 138.2 (C2/10/11)*, 137.7 (C2/10/11)*, 132.1 (C3), 130.1 (C _{arom.}), 129.5 (C1), 129.0 (C _{arom.}), 127.4 (C _{arom.}), 126.3 (C _{arom.}), 126.0 (C _{arom.}), 124.4 (C _{arom.}), 114.9 (C6), 77.5 (C _{q Boc}), 41.7 (C16), 28.1 (3C, CH _{3 Boc}), 20.5 (C9).
HR-MS:	Für C ₂₁ H ₂₃ N ₃ O ₃ Na (M+Na) ⁺ ber.: 388.1632 gef.: 388.1629
Smp.	155.7 °C

6.3.25 Verbindung 3.31

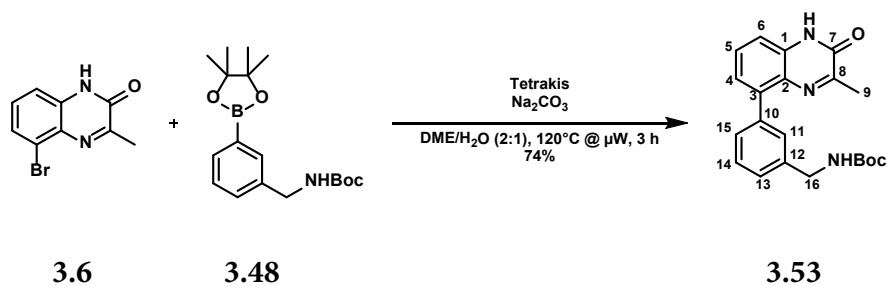


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.52	1.00	0.19	0.07	365.43		
TFA	17.4	3.30	0.38	114.02	1.48	0.25
DCM			17.4 mL/mmol			3.3

Eine Lösung von **3.52** (0.07 g, 0.19 mmol, 1.00 äq) in DCM (3.3 mL) wurde mit TFA (0.25 mL, 3.30 mmol, 17.4 äq) versetzt und über Nacht bei RT gerührt. Nach vollständigem Umsatz des Eduktes wurde der Ansatz mit H₂O (5 mL) und 2 M NaOH (aq., 1 mL) versetzt und das organische Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die wässrige Lösung des Rohproduktes wurde mittels RP-MPLC (0-90% MeOH in H₂O über 45 min) gereinigt und das Produkt mit 6 M HCl (Isopropanol) in das entsprechende Hydrochlorid überführt, dabei wurden 53 mg (0.18 mmol, 95%) des Produkt-HCl-Salzes **3.31** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 12.49 (s, 1H, 1-NH), 8.41 (s, 3H, 16-NH ₃ ⁺), 7.73 (dd, ³ J = 7.7 Hz, ⁴ J = 0.6 Hz, 1H, 15-H), 7.56 (dd, ³ J = 7.7 Hz, 1H, 5-H), 7.50 (ddd, ³ J = 7.6 Hz, ⁴ J = 1.4 Hz, 1H, 13-H/14-H)*, 7.44 (ddd, ³ J = 7.5 Hz, ⁴ J = 1.2 Hz, 1H, 13-H/14-H)*, 7.41 (dd, ³ J = 8.3 Hz, ⁴ J = 1.4 Hz, 1H, 4-H), 7.28 (dd, ³ J = 7.6 Hz, ⁴ J = 1.3 Hz, 1H, 12-H), 7.19 (dd, ³ J = 7.5 Hz, ⁴ J = 1.4 Hz, 1H, 6-H), 3.78 (d, ² J = 12.0 Hz, 1H, 16-H _a), 3.63 (d, ² J = 11.7 Hz, 1H, 16-H _b), 2.29 (s, 3H, 9-H).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich; * ¹ = überlagert vermutlich mit DMSO-Signal δ (ppm) = 159.4 (C8), 154.6 (C7), 138.4 (C3/C11)*, 137.8 (C3/C11)*, 132.6 (C2/C10)*, 132.3 (C2/C10)*, 130.9 (C5), 129.3 (C1), 129.2 (C14), 127.9 (C4/C12/C13)*, 127.7 (C4/C12/C13)*, 127.7 (C4/C12/C13)*, 124.8 (C15), 115.4 (C6), 39.9 (C16)* ¹ , 20.6 (C9).
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₁₅ N ₃ OH (M+H) ⁺ ber.: 266.1288 gef.: 266.1286
EA:	Für C ₁₆ H ₁₅ N ₃ O x HCl x 0.25 H ₂ O ber./gef. (%) N: 13.72 / 13.58 C: 62.75 / 62.35 H: 5.43 / 5.30
Smp.	Zersetzung bei > 300 °C

6.3.26 Verbindung 3.53



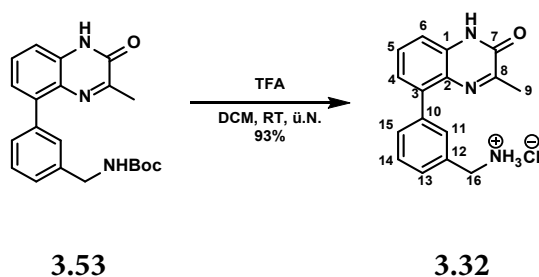
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.6	1.00	0.84	0.20	239.07		
3.48	1.20	1.00	0.33	333.24		
Na ₂ CO ₃	2.00	1.68	0.18	105.99		
Tetrakis	5 mol%	0.042	0.049	1155.59		
DME/H ₂ O (2:1)			11.5 mL/mmol			9.7

Durchführung nach AAV_3_ SUZUKI-Kupplung

Nach Aufreinigung des Rohproduktes mittels MPLC (15-40% EtOAc in CH über 30 min) wurden 0.23 g (0.62 mmol, 74%) des Produktes **3.53** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 12.34 (s, 1H, 1-NH), 7.53 (dd, ³ J = 7.7 Hz, 1H, 5-H), 7.44 - 7.37 (m, 4H, H _{arom.}), 7.29 (dd, ³ J = 8.0 Hz, ⁴ J = 1.4 Hz, 1H, 4-H/6-H)*, 7.26 - 7.24 (m, 2H, 4-H/6-H + 16-NH)*, 4.20 (d, ³ J = 6.0 Hz, 2H, 16-H ₂), 2.35 (s, 3H, 9-H ₃), 1.39 (s, 9H, Boc).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 158.3 (C8), 155.8 (CO _{Boc}), 154.5 (C7), 139.6 (C2/C10)*, 139.4 (C2/10)*, 38.2 (C12), 132.5 (C3), 129.2 (C5/C11/C14)*, 128.9 (C5/C11/C14)*, 128.8 (C5/C11/C14)*, 128.7 (C1), 127.5 (C13), 125.8 (C4), 123.9 (C15), 114.7 (C6), 77.7 (C _q _{Boc}), 43.4 (C16), 28.2 (3C, CH ₃ _{Boc}), 20.7 (C9).
HR-MS:	Für C ₂₁ H ₂₃ N ₃ O ₃ H (M+H) ⁺ ber.: 366.1812 gef.: 366.1811
Smp.	186.4 °C

6.3.27 Verbindung 3.32



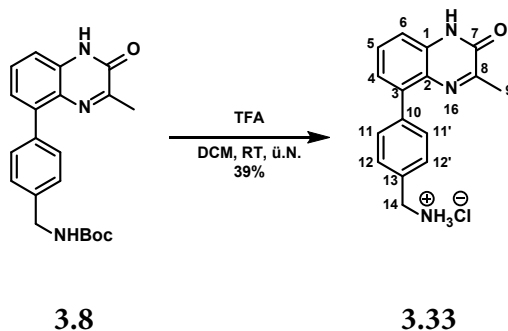
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.53	1.00	0.41	0.15	365.43		
TFA	10.0	4.10	0.47	114.02	1.48	0.32
DCM			10 mL/mmol			4.1

Durchführung nach AAV_5_Boc-Entschützung

Die wässrige Lösung des Rohproduktes wurde mittels RP-MPLC (0-90% MeOH in H₂O über 45 min) gereinigt und das Produkt mit 6 M HCl (Isopropanol) in das entsprechende Hydrochlorid überführt, dabei wurden 0.12 g (0.38 mmol, 93%) des Produktes **3.32** als hellbeiger Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 12.43 (s, 1H, 1-NH), 8.52 (s, 3H, 16-NH ₃ ⁺), 7.69 (s, 1H, 11-H), 7.59 (ddd, ³ J = 7.5 Hz, ⁴ J = 1.6 Hz, 1H, 13-H/15-H)*, 7.56 - 7.47 (m, 3H, H _{arom.}), 7.35 (dd, ³ J = 8.2 Hz, ⁴ J = 1.3 Hz, 1H, 4-H/6-H)*, 7.30 (dd, ³ J = 7.45 Hz, ⁴ J = 1.4 Hz, 1H, 4-H/6-H)*, 4.09 (q, ³ J = 5.7 Hz, 2H, 16-H ₂), 6.26 (s, Maleinsäure), 2.35 (s, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 166.6 (COOH _{Maleinsäure}), 158.6 (C8), 154.6 (C7), 138.9 (C2/C10)*, 138.6 (C2/C10)*, 133.7 (C12), 132.6 (C3), 130.8 (C5/C11/C14)*, 130.6 (C5/C11/C14)*, 130.2 (CH _{Maleinsäure}), 129.2 (C5/C11/C14)*, 128.7 (C1), 127.8 (C4/C13)*, 127.8 (C3/C13)*, 124.0 (C15), 115.0 (C6), 42.3 (C16), 20.7 (C9).
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₁₅ N ₃ OH (M+H) ⁺ ber.: 266.1288 gef.: 266.1286
qNMR:	Die Reinheit wurde mittels qNMR auf 91.0% bestimmt (Standard: Maleinsäure).
Smp.	Zersetzung bei > 300 °C

6.3.28 Verbindung 3.33



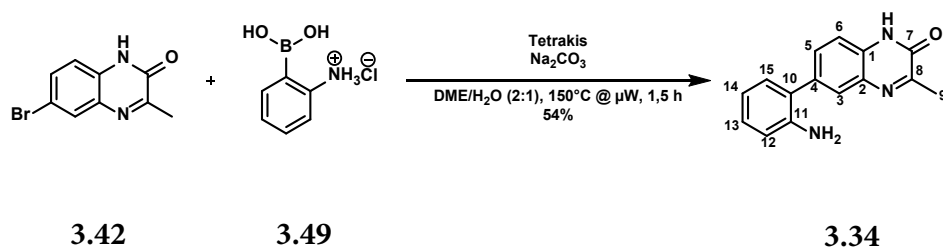
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
3.8	1.00	0.52	0.19	365.43		
TFA	10.0	5.20	0.59	114.02	1.48	0.40
DCM			10 mL/mmol			5.2

Durchführung nach AAV_5_Boc-Entschützung

Nach Aufreinigung des Rohproduktes mittels RP-MPLC (2-90% MeOH in H₂O über 30 min) und anschließender Überführung in das entsprechende Hydrochlorid mit 6 M HCl (Isopropanol) wurde 0.10 g (0.34 mmol, 65%) des Produktes **3.33** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 12.44 (s, 1H, 1-NH), 8.60 (s, 3H, 14-NH ₃ ⁺), 7.59 (s, 4H, 11/11'-H + 12/12'-H), 7.53 (dd, ³ J = 7.7 Hz, 1H, 5-H), 7.35 (dd, ³ J = 8.2 Hz, ⁴ J = 1.3 Hz, 1H, 4-H/6-H)*, 7.26 (dd, ³ J = 7.5 Hz, ⁴ J = 1.2 Hz, 1H, 4-H/6-H)*, 4.08 (q, ³ J = 5.3 Hz, 2H, 14-H ₂), 2.33 (s, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 158.5 (C8), 154.5 (C7), 138.8 (C3/C13)*, 138.4 (C3/C13)*, 133.1 (C2/C10)*, 132.6 (C2/C10)*, 130.4 (2C, C11/11'), 129.2 (C5), 128.7 (C1), 128.3 (2C, C12/12'), 124.0 (C4), 115.0 (C6), 41.9 (C14), 20.7 (C9).
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₁₅ N ₃ OH (M+H) ⁺ ber.: 266.1288 gef.: 266.1287
EA:	Für C ₁₆ H ₁₅ N ₃ O x HCl x 0.75 H ₂ O ber./gef. (%) N: 13.33 / 13.15 C: 60.95 / 61.18 H: 5.59 / 5.46
Smp.	Zersetzung bei > 300 °C

6.3.29 Verbindung 3.34

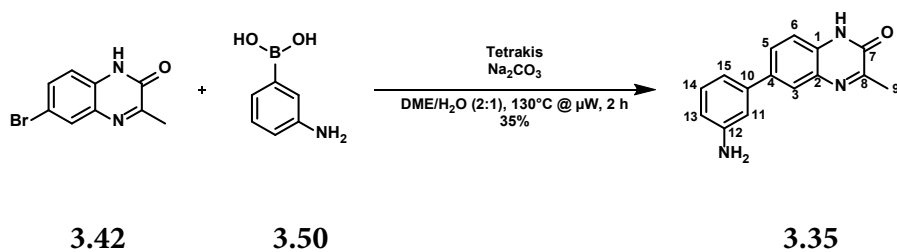


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
3.42	1.00	0.84	0.20	239.07		
3.49	1.20	1.00	0.17	173.40		
Na ₂ CO ₃	3.00	2.52	0.27	105.99		
Tetrakis	5 mol%	0.04	0.05	1155.59		
DME/H ₂ O (2:1)			11.5 mL/mmol			9.7

Eine Lösung von **3.42** (0.20 g, 0.84 mmol, 1.00 äq), **3.49** (0.17 g, 1.00 mmol, 1.20 äq), Na₂CO₃ (0.27 g, 2.52 mmol, 3.00 äq) und Tetrakis (0.05 g, 0.04 mmol, 5 mol%) in DME/H₂O (2:1, 9.7 mL) wurde 10 min im Vakuum entgast und im Anschluss für 1.5 h in der Mikrowelle (150 °C/150 W) unter Argon gerührt. Nach dem Abkühlen wurde der Ansatz in EtOAc (50 mL) aufgenommen und über Celite filtriert, anschließend wurde die organische Phase mit H₂O (30 mL) und Brine (30 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (30-70% EtOAc in CH über 50 min) gereinigt, dabei wurden 0.11 g (0.45 mmol, 54%) des Produktes **3.34** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 12.33 (s, 1H, 1-NH), 7.69 (d, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 3-H), 7.52 (dd, ³ J = 8.5 Hz, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 5-H), 7.33 (d, ³ J = 8.3 Hz, 1H, 6-H), 7.05 (ddd, ³ J = 7.7 Hz, ⁴ J = 1.6 Hz, 1H, 13-H), 7.02 (dd, ³ J = 7.7 Hz, ⁴ J = 1.4 Hz, 1H, 15-H), 6.77 (dd, ³ J = 7.9 Hz, ⁴ J = 0.9 Hz, 1H, 12-H), 6.65 (ddd, ³ J = 7.3 Hz, ⁴ J = 1.2 Hz, 1H, 14-H), 4.81 (s, 2H, 11-NH ₂), 2.42 (s, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 159.3 (C8), 154.8 (C7), 145.1 (C11), 134.5 (C4), 131.7 (C1/C2)*, 130.6 (C1/C2)*, 130.0 (2C, C3/C5 + C13)*, 128.2 (C3/C5)*, 127.4 (C15), 124.7 (C10), 116.8 (C6), 115.5 (C12/C14)*, 115.3 (C12/C14)*, 20.5 (C9).
HR-MS:	Für C ₁₅ H ₁₃ N ₃ OH (M+H) ⁺ ber.: 252.1131 gef.: 252.1137
EA:	Für C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ber./gef. (%) N: 16.72 / 16.42 C: 71.70 / 71.43 H: 5.21 / 5.40
Smp.	276.0 °C

6.3.30 Verbindung 3.35



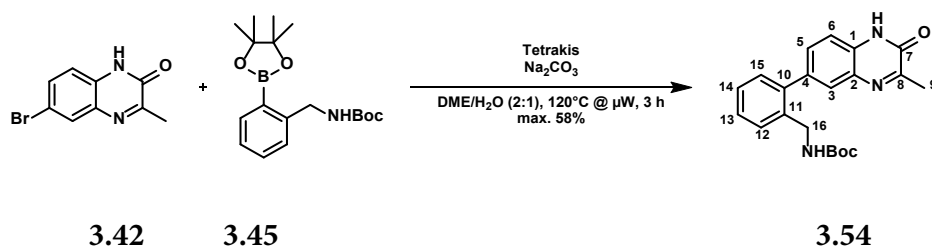
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
3.42	1.00	0.84	0.20	239.07		
3.50	1.20	1.00	0.14	136.95		
Na ₂ CO ₃	2.00	1.68	0.18	105.99		
Tetrakis	5 mol%	0.04	0.05	1155.59		
DME/H ₂ O (2:1)			11.5 mL/mmol			9.7

Durchführung nach modifizierter AAV_3_ SUZUKI-Kupplung (aber: T = 130 °C)

Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (35-75% EtOAc in CH über 40 min) gereinigt, dabei wurden 72 mg (0.29 mmol, 35%) des Produktes **3.35** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K, qNMR-Standard: Maleinsäure); Das Signal von 12-NH ₂ wird durch Interaktion mit dem qNMR-Standard stark verbreitert und in den Bereich 9-10 ppm verschoben. δ (ppm) = 12.34 (s, 1H, 1-NH), 7.85 (d, ⁴ J = 1.7 Hz, 1H, 3-H), 7.70 (dd, ³ J = 8.6 Hz, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 5-H), 7.33 (d, ³ J = 8.3 Hz, 1H, 6-H), 7.19 (dd, ³ J = 7.9 Hz, 1H, 14-H), 7.03 (t, ⁴ J = 1.7 Hz, 1H, 11-H), 6.99 (d, ³ J = 7.7 Hz, 1H, 15-H), 6.70 (dd, ³ J = 7.9 Hz, ⁴ J = 1.3 Hz, 1H, 13-H), 6.24 (Maleinsäure), 2.42 (s, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K, qNMR-Standard: Maleinsäure); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 159.7 (C8), 154.8 (C7), 154.8 (COOH Maleinsäure), 146.4 (C12), 139.9 (C10), 135.5 (C4), 131.9 (C1/C2)*, 131.2 (C1/C2)*, 130.8 (CH Maleinsäure), 129.7 (C3/C5)*, 127.7 (C3/C5)*, 125.1 (C14), 116.2 (C6/C11/ C13/C15)*, 115.7 (C6/C11/C13/C15)*, 114.6 (C6/C11/ C13/C15)*, 113.5 (C6/C11/C13/C15)*, 20.5 (C9).
HR-MS:	Für C ₁₅ H ₁₃ N ₃ OH (M+H) ⁺ ber.: 252.1131 gef.: 252.1137
qNMR:	Die Reinheit wurde mittels qNMR auf 93.3% bestimmt (Standard: Maleinsäure).
Smp.	232.7 °C

6.3.31 Verbindung 3.54



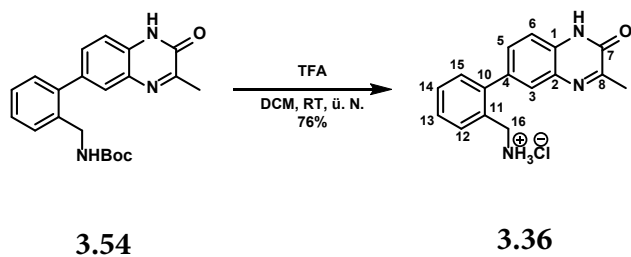
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
3.42	1.00	1.03	0.25	239.07		
3.45	1.20	1.23	0.41	333.24		
Na ₂ CO ₃	2.00	2.05	0.22	105.99		
Tetrakis	5 mol%	0.05	0.06	1155.59		
DME/H ₂ O (2:1)			11.5 mL/mmol			11.8

Durchführung nach AAV_3_ SUZUKI-Kupplung

Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und mittels MPLC (30-50% EtOAc in CH über 30 min) gereinigt, dabei wurden 0.22 g (0.60 mmol, max. 58%) des noch leicht verunreinigten Produktes **3.54** als gelblicher Feststoff erhalten. Da die Verunreinigung nicht per HPLC abtrennbar war, wurde die Verbindung ohne weitere Aufreinigung weiter umgesetzt.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 12.36 (s, 1H, 1-NH), 7.64 (s, 1H, 3-H), 7.45 (d, ³ J = 7.2 Hz, 1H, 12-H/15-H)*, 7.41 - 7.36 (m, 2H, 12-H/15-H + 13-H/14-H)*, 7.34 (d, ³ J = 8.3 Hz, 1H, 6-H), 7.32 (ddd, ³ J = 7.2 Hz, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 13-H/14-H)*, 7.29 (t, ³ J = 5.7 Hz, 1H, 16-NH), 7.24 (dd, ³ J = 7.9 Hz, ⁴ J = 0.9 Hz, 1H, 5-H), 4.10 (d, ³ J = 6.0 Hz, 2H, 16-H ₂), 2.43 (s, 3H, 9-H ₃), 1.36 (s, 9H, Boc).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 159.6 (C8), 155.6 (CO _{Boc}), 154.9 (C7), 139.4 (C11), 137.1 (C2), 135.1 (C10), 131.3 (C1/C4)*, 130.9 (C1/C4)*, 130.3 (C _{arom.})*, 129.7 (C _{arom.})*, 127.9 (C _{arom.})*, 127.5 (C _{arom.})*, 127.4 (C _{arom.})*, 126.7 (C _{arom.})*, 115.0 (C6), 77.7 (C _q Boc), 41.3 (C16), 28.2 (3C, CH ₃ Boc), 20.4 (C9).
HR-MS:	Für C ₂₁ H ₂₃ N ₃ O ₃ Na (M+Na) ⁺ ber.: 388.1632 gef.: 388.1627
Smp.	180.2 °C

6.3.32 Verbindung 3.36



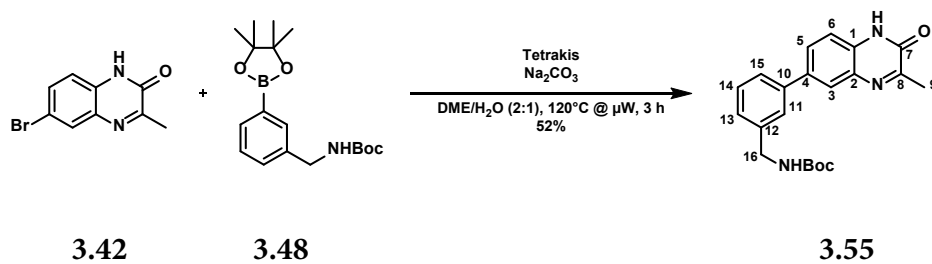
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
3.54	1.00	0.41	0.15	365.43		
TFA	10.0	4.10	0.47	114.02	1.48	0.32
DCM			10 mL/mmol			4

Durchführung nach AAV_5_Boc-Entschützung

Das Rohprodukt wurde mittels präparativer HPLC (5-95% MeCN in H₂O über 1 h) gereinigt und mit 6 M HCl (Isopropanol) in das entsprechende Hydrochlorid überführt, dabei wurden 93 mg (0.31 mmol, 76%) des Produktes **3.36** als gelbbrauner Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 12.48 (s, 1H, 1-NH), 8.58 (s, 3H, 16-NH ₃ ⁺), 7.77 (dd, ³ J = 7.6 Hz, ⁴ J = 1.3 Hz, 1H, 15-H), 7.71 (d, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 3-H), 7.54 - 7.44 (m, 3H, 5-H + 13-H + 14-H), 7.41 (d, ³ J = 8.6 Hz, 1H, 6-H), 7.35 (dd, ³ J = 7.3 Hz, ⁴ J = 1.6 Hz, 1H, 12-H), 3.97 (q, ³ J = 5.7 Hz, 2H, 16-H ₂), 2.43 (s, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich; ¹ = überlagert mit DMSO-Signal δ (ppm) = 160.0 (C8), 154.8 (C7), 140.5 (C11), 134.3 (C2), 131.5 (C1), 131.3 (2C, C4 + C10), 130.4 (C3/12)*, 130.3 (C3/12)*, 128.8 (C _{arom.}), 128.4 (C _{arom.}), 128.1 (C _{arom.}), 127.9 (C _{arom.}), 115.4 (C6), 39.4 (C16) ^{*1} , 20.5 (C9).
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₁₅ N ₃ OH (M+H) ⁺ ber.: 266.1288 gef.: 266.1295
EA:	Für C ₁₆ H ₁₅ N ₃ O x HCl x 1.75 H ₂ O ber./gef. (%) N: 12.61 / 12.62 C: 57.66 / 57.75 H: 5.90 / 5.80
Smp.	Zersetzung bei > 235 °C

6.3.33 Verbindung 3.55



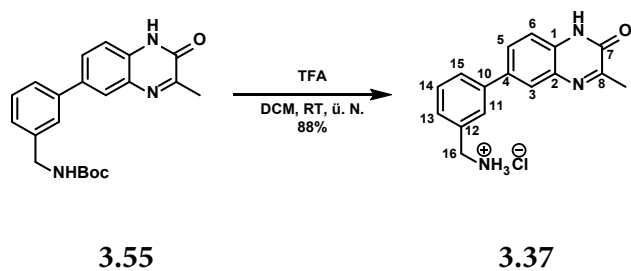
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
3.42	1.00	0.84	0.20	239.07		
3.48	1.40	1.18	0.39	333.24		
Na ₂ CO ₃	2.00	1.68	0.18	105.99		
Tetrakis	5 mol%	0.04	0.05	1155.59		
DME/H ₂ O (2:1)			11.5 mL/mmol			9.7

Durchführung nach AAV_3_ SUZUKI-Kupplung

Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und mittels MPLC (20-50% EtOAc in CH über 30 min) gereinigt, dabei wurden 0.16 g (0.44 mmol, 52%) des Produktes **3.55** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich; * ¹ = überlagert mit 16-NH δ (ppm) = 12.36 (s, 1H, 1-NH), 7.96 (d, ⁴ J = 1.8 Hz, 1H, 3-H), 7.77 (dd, ³ J = 8.5 Hz, ⁴ J = 1.8 Hz, 1H, 5-H), 7.61 (s, 1H, 11-H), 7.58 (d, ³ J = 8.0 Hz, 1H, 13-H/15-H)*, 7.41 (dd, ³ J = 7.6 Hz, 1H, 14-H)* ¹ , 7.36 (d, ³ J = 8.5 Hz, 1H, 6-H), 7.23 (d, ³ J = 7.6 Hz, 1H, 13-H/15-H)*, 4.21 (d, ³ J = 6.0 Hz, 2H, 16-H ₂), 2.43 (s, 3H, 9-H ₃), 1.40 (s, 9H, Boc).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 159.7 (C8), 155.8 (CO _{Boc}), 154.8 (C7), 140.9 (C12), 139.0 (C2), 135.0 (C10), 132.0 (C1/C4)*, 131.3 (C1/C4)*, 128.9 (C _{arom.}), 127.7 (C _{arom.}), 126.0 (C _{arom.}), 125.4 (C _{arom.}), 125.2 (C _{arom.}), 124.8 (C _{arom.}), 115.7 (C6), 77.8 (C _{q Boc}), 43.4 (C16), 28.2 (3C, CH _{3 Boc}), 20.5 (C9).
HR-MS:	Für C ₂₁ H ₂₃ N ₃ O ₃ Na (M+Na) ⁺ ber.: 388.1632 gef.: 388.1633
Smp.	200.9 °C

6.3.34 Verbindung 3.37



	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
3.55	1.00	0.25	0.09	365.43		
TFA	10.0	2.50	0.29	114.02	1.48	0.19
DCM			10 mL/mmol			2.5

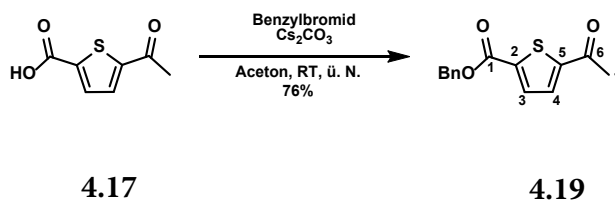
Durchführung nach AAV_5_Boc-Entschützung

Das Rohprodukt wurde mittels präparativer HPLC (5-95% MeCN in H₂O über 1 h) gereinigt und mit 4 M HCl (aq.) in das entsprechende Hydrochlorid überführt, dabei wurden 67 mg (0.22 mmol, 88%) des Produktes **3.37** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 12.44 (s, 1H, 1-NH), 8.55 (s, 3H, 16-NH ₃ ⁺), 8.05 (d, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 3-H), 7.96 (s, 1H, 11-H), 7.86 (dd, ³ J = 8.3 Hz, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 5-H), 7.74 (d, ³ J = 7.7 Hz, 1H, 15-H), 7.51 (dd, ³ J = 7.6 Hz, 1H, 14-H), 7.47 (d, ³ J = 7.7 Hz, 1H, 13-H), 7.41 (d, ³ J = 8.6 Hz, 1H, 6-H), 4.10 (s, 2H, 16-H ₂), 2.43 (s, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 159.8 (C8), 154.8 (C7), 139.2 (C12), 134.8 (C2/C10)*, 134.4 (C2/C10)*, 132.0 (C1/C4)*, 131.5 (C1/C4)*, 129.2 (C _{arom.}), 127.8 (C _{arom.}), 127.7 (C _{arom.}), 127.2 (C _{arom.}), 126.3 (C _{arom.}), 125.5 (C _{arom.}), 115.8 (C6), 42.2 (C16), 20.5 (C9).
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₁₆ N ₃ O (M) ⁺ ber.: 266.1288 gef.: 266.1290
EA:	Für C ₁₆ H ₁₆ ClN ₃ O x 0.5 H ₂ O ber./gef. (%) N: 13.52 / 13.48 C: 61.84 / 61.85 H: 5.51 / 5.42
Smp.	Zersetzung bei > 300 °C.

6.4 Einzelsynthesen - Kapitel 4

6.4.1 Verbindung 4.19

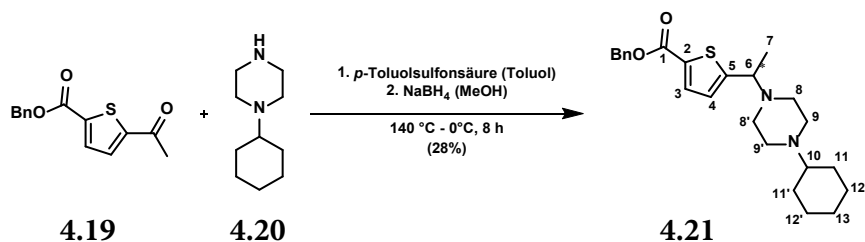


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
5-Acetylthiophen-2-carbonsäure	1.00	20.0	3.40	170.19		
Benzylbromid	1.20	24.0	4.10	171.04	1.44	2.9
Cs ₂ CO ₃	2.00	40.0	13.0	325.82		
Aceton			3 mL/mmol			60

5-Acetylthiophen-2-carbonsäure (**4.17**, 3.40 g, 20.0 mmol, 1.00 äq) wurden in Aceton (60 mL) suspendiert und mit Cs₂CO₃ (13.0 g, 40.0 mmol, 2.00 äq) versetzt. Anschließend wurde Benzylbromid (2.9 mL, 24.0 mmol, 1.20 äq) vorsichtig zugetropft und der Ansatz bei RT über Nacht gerührt. Am nächsten Tag wurde der Ansatz filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde in EtOAc (40 mL) resuspendiert, an Silicagel adsorbiert und mittels Säulenchromatographie (0-5% EtOAc in CH über 30 min) aufgereinigt. Es wurden 3.97 g (15.2 mmol, 76%) des Produktes **4.19** als hellgelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 7.95 (d, ³ J = 4.0 Hz, 1H, 3-H), 7.88 (d, ³ J = 4.0 Hz, 1H, 4-H), 7.50 - 7.33 (m, 5H, H _{arom. Bn}), 5.36 (s, 2H, Ph-CH ₂ Bn), 2.59 (s, 3H, 7-H ₃).
¹³C-NMR:	(100 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 191.3 (C6), 160.8 (C1), 148.8 (C5), 138.5 (C _q Bn), 135.5 (C2), 134.3 (C4), 133.5 (C3), 128.5 (2C, C _{arom. Bn}), 128.2 (C _{arom. Bn}), 128.0 (2C, C _{arom. Bn}), 66.8 (Ph-CH ₂ Bn), 26.8 (C7).
HR-MS:	Für C ₁₄ H ₁₂ O ₃ SNa (M+Na) ⁺ ber.: 283.0399 gef.: 283.0407
EA:	Für C ₁₄ H ₁₂ O ₃ S ber./gef. (%) N: 0.00 / 0.00 C: 64.60 / 64.56 H: 4.65 / 4.67
Smp.	69.3 °C

6.4.2 Verbindung 4.21

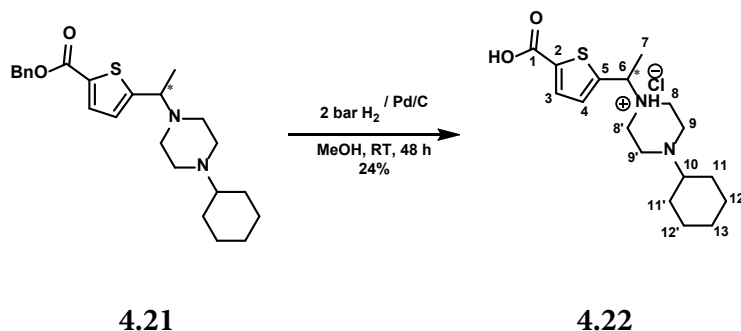


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.19	1.00	5.76	1.50	260.31		
<i>N</i> -Cyclohexyl- piperazin	1.50	8.64	1.45	168.28		
<i>p</i> -Toluolsulfon- säure x 1 H ₂ O	1 mol%	0.06	0.01	190.20		
Toluol			2 mL/mmol			22
NaBH ₄	4.00	23.0	0.87	37.83		
AcOH						10 Tr.
MeOH			2 mL/mmol			12+20

4.19 (1.50 g, 5.76 mmol, 1.00 äq) wurde in Toluol (22 mL) gelöst und mit *N*-Cyclohexylpiperazin (**4.20**, 1.45 g, 8.64 mmol, 1.50 äq) und *p*-Toluolsulfonsäure x 1H₂O (0.01 g, 0.06 mmol, 1 mol%) versetzt. Das Reaktionsgefäß wurde mit einem Wasserabscheider (Reservoirvolumen 10 mL) bestückt und der Ansatz für 6 h auf 140 °C erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in MeOH (12 mL) gelöst und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Dann wurde NaBH₄ (0.87 g, 23.0 mmol, 4.00 äq) portionsweise über einen Zeitraum von 10 min bei 0 °C zugegeben und der Ansatz für 1 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung für 30 min bei RT gerührt, mit MeOH (20 mL) verdünnt und dann mit 10 Tropfen AcOH versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde nochmals für 30 min bei RT gerührt, mit H₂O (20 mL) und sat. NaHCO₃ (aq., 20 mL) versetzt und dann mit DCM (3 x 100 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt an Silicagel adsorbiert. Nach Reinigung per Säulenchromatographie (0-15% MeOH in DCM über 40 min) wurden 0.67 g (~1.61 mmol, 28%) des noch leicht verunreinigten Rohproduktes **4.21** als gelbliches Öl erhalten. Dieses wurde ohne weitere Aufreinigung umgesetzt.

¹ H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); * = überlagert mit DMSO-Signal</p> <p>δ (ppm) = 7.70 (d, ³J = 3.7 Hz, 1H, 3-H), 7.47 - 7.31 (m, 5H, H_{arom. Bn}), 7.02 (d, ³J = 4.0 Hz, 1H, 4-H), 5.30 (s, 2H, Ph-CH₂ Bn), 3.93 (q, ³J = 6.4 Hz, 1H, 6-H), 3.34 (dd, ³J_{trans} = 5.0 Hz, ³J_{cis} = 4.9 Hz, ½ H, ½ 10-H), 3.31 (dd, ³J_{trans} = 5.0 Hz, ³J_{cis} = 4.9 Hz, ½ H, ½ 10-H), 2.84 - 2.15 (m, 8H, 8/8'-H₂ + 9/9'-H₂)*, 1.89 - 1.65 (m, 4 H, 11/11'-H₂), 1.56 (d, ²J = 12.3 Hz, 1H, ½ 13-H₂), 1.34 (d, ³J = 6.6 Hz, 3H, 7-H₃), 1.23 - 1.14 (m, 4H, 12/12'-H₂), 1.09 - 1.01 (m, 1H, ½ 13-H₂).</p>
¹³ C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K); * = Zuordnung nicht gesichert; *¹ = Konformationelle Instabilität führt zu Signalaufspaltung, z.T. mehrere Signale je Atom</p> <p>δ (ppm) = 161.3 (C1), 136.0 (C_q Bn), 133.7 (C3), 130.8 (C2), 128.5 (2C, C_{arom. Bn}), 128.1 (C_{arom. Bn}), 128.0 (2C, C_{arom. Bn}), 125.4 (C4), 66.0 (-CH₂ Bn), 62.8 (C6/10)*, 58.5 (C6/10)*, 49.2 (C_{aliph.}), *¹ 48.5 (C_{aliph.}), 48.0 (C_{aliph.})*¹, 47.9 (C_{aliph.})*¹, 45.2 (C_{aliph.})*¹, 44.9 (C_{aliph.})*¹, 28.1 (C_{aliph.})*¹, 27.8 (C_{aliph.})*¹, 25.8 (C_{aliph.})*¹, 25.5 (C_{aliph.})*¹, 25.3 (C_{aliph.})*¹, 25.1 (C_{aliph.})*¹, 25.0 (C_{aliph.}), 16.8 (C7).</p>
HR-MS:	<p>Für C₂₄H₃₂N₂O₂SH (M+H)⁺</p> <p>ber.: 413.2257</p> <p>gef.: 413.2251</p>

6.4.3 Verbindung 4.22

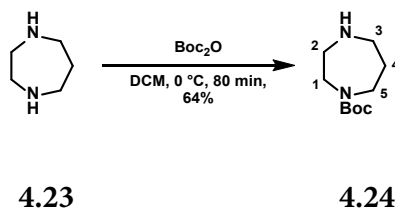


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.21	1.00	1.37	0.57	412.59		
Pd/C (10% Pd)	10 mol%	0.14	0.015	106.42		
MeOH			4 mL/mmol			5.5

4.21 (0.57 g, 1.37 mmol, 1.00 äq) wurde in MeOH (5.5 mL) gelöst und Pd/C (15 mg, 10 mol%) zugefügt. Der Ansatz wurde im TinyClave® unter H₂-Atmosphäre (2 bar) für 24 h bei RT gerührt. Nach Ablauf der Zeit wurde der H₂-Druck erneut auf 2 bar eingestellt und nochmals für 24 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch über Celite filtriert und mit MeOH (15 mL) gespült. Das Filtrat wurde am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingengt, der Rückstand an Silicagel adsorbiert und mittels Säulenchromatographie (0-15% MeOH in DCM über 15 min, dann 15% MeOH in DCM über 15 min) aufgereinigt. Es wurden 0.11 g (0.33 mmol, 24%) des Produktes als beiger Feststoff erhalten. Dieses wurde zur Verbesserung der Löslichkeit mit 2 M HCl (Et₂O) in das entsprechende Hydrochlorid **4.22** überführt.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); H _{a/e} = H _{equatorial} oder H _{axial} ; * = Signale überlagern δ (ppm) = 11.63 (s(b), 1H, 1-OOH), 7.58 (d, ³ J = 3.7 Hz, 1H, 3-H), 7.02 (d, ³ J = 3.7 Hz, 1H, 4-H), 4.02 (q, ³ J = 6.5 Hz, 1H, 6-H), 3.09 (s(b), 4H, 8/8'/9/9'-H _{e/a}), 2.97 (sm, 1H, 10-H), 2.74 (s(b), 4H, 8/8'/9/9'-H _{e/a}), 2.06 (d, ² J = 10.9 Hz, 2H, 11/11'-H _{e/a}), 1.79 (d, ² J = 12.9 Hz, 2H, 12/12'-H _{e/a}), 1.59 (d, ² J = 12.6 Hz, 1H, 13-H _{e/a}), 1.40 - 1.33 (m, 2H, 11/11'-H _{e/a})*, 1.36 (d, ³ J = 6.9 Hz, 3H, 7-H ₃)*, 1.26 - 1.19 (m, 2H, 12/12'-H _{e/a}), 1.11 - 1.03 (m, 1H, 13-H _{e/a}).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); *Zuordnung nicht gesichert δ (ppm) = 163.0 (C1), 154.2 (C5), 133.5 (C2), 132.7 (C3), 125.6 (C4), 63.7 (C6), 58.0 (C10), 48.2 (C8/8')*, 46.0 (C9/9')*, 26.3 (C11/11'), 24.8 (C13), 24.5 (C12/12'), 16.9 (C7).
HR-MS:	Für C ₁₇ H ₂₆ N ₂ O ₂ SH (M+H) ⁺ ber.: 323.1788 gef.: 323.1796 Für C ₁₇ H ₂₅ N ₂ O ₂ S (M-H) ⁻ ber.: 321.1642 gef.: 321.1652
EA:	Für C ₁₇ H ₂₆ N ₂ O ₂ S x HCl x 1 H ₂ O ber./gef. (%) N: 7.43 / 7.19 C: 54.17 / 53.81 H: 7.75 / 7.67
Smp.	133.3 °C

6.4.4 Verbindung 4.24

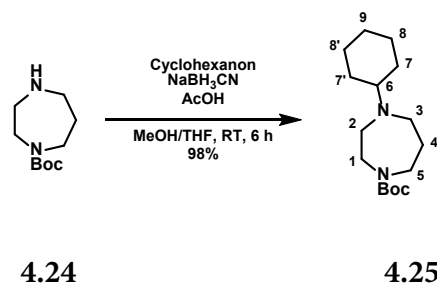


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
Boc ₂ O	1.00	10.0	2.18	218.25		
Homopiperazin	2.00	20.0	2.00	100.17		
DCM		2.5 mL/mmol und 2 mL/mmol				50 + 20

Zu einer Lösung von Homopiperazin (**4.23**, 2.00 g, 20.0 mmol, 2.00 äq) in DCM (50 mL) wurde bei 0°C über 20 min eine Lösung von Boc₂O (2.18 g, 10.0 mmol, 1.00 äq) in DCM (20 mL) zugetropft. Der Ansatz wurde für 1 h bei 0°C gerührt, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde in H₂O (30 mL) aufgenommen, filtriert und mit 2 M K₂CO₃ (aq., 30 mL) versetzt. Die wässrige Lösung wurde mit DCM (3 x 60 mL) extrahiert und die vereinigte organische Phase über K₂CO₃ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt per Kugelrohrdestillation (0.4 mbar, 130-135°C) gereinigt. Es wurden 1.28 g (6.40 mmol, 64%) des Produktes **4.24** als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, CDCl ₃ , 300 K); δ (ppm) = 3.45 - 3.34 (m, 4H, 1-H ₂ + 5-H ₂), 2.86 - 2.77 (m, 4H, 2-H ₂ + 3-H ₂), 1.82 (s, 1H, 2-NH), 1.76 - 1.67 (m, 2H, 4-H ₂), 1.41 (s, 9H, Boc).
¹³C-NMR:	(125 MHz, CDCl ₃ , 300 K); * = Aufgrund von Konformationsisomerie des Ringes ist eine eindeutige Zuweisung der Signale nicht möglich δ (ppm) = 155.6/155.5 (CO _{Boc}), 79.3/79.2 (C _{qBoc}), 50.1/49.7/49.6/49.5 (C1 + C5)*, 48.5/48.1 (C2/C3)*, 46.1/45.4 (C2/C3)*, 30.6, 30.5 (C4), 28.5 (3C, Boc).
HR-MS:	Für C ₁₀ H ₂₀ N ₂ O ₂ H (M+H) ⁺ ber.: 201.1598 gef.: 201.1594
EA:	Für C ₁₀ H ₂₀ N ₂ O ₂ x 0.125 H ₂ O ber./gef. (%) N: 13.83 / 14.11 C: 59.30 / 59.19 H: 10.08 / 9.98

6.4.5 Verbindung 4.25

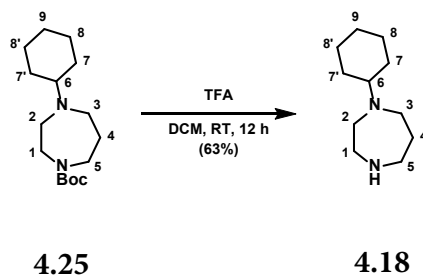


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
N-Boc-homopiperazin	1.00	3.50	0.70	200.28		
Cyclohexanon	2.00	7.00	0.69	98.15	0.95	0.73
NaBH ₃ CN	2.00	7.00	0.44	62.84		
AcOH	2.00	7.00	0.42	60.05	1.05	0.40
MeOH			3.3 mL/mmol			12
THF			2.5 ml/mmol			9

Eine Lösung von *N*-Boc-homopiperazin (**4.24**, 0.70 g, 3.50 mmol, 1.00 äq) und Cyclohexanon (0.73 mL, 7.00 mmol, 2.00 äq) in MeOH (12 mL), THF (9 mL) und AcOH (0.40 mL) wurde portionsweise mit NaBH₃CN (0.44 g, 7.00 mmol, 2.00 äq) versetzt und anschließend für 6 h bei RT gerührt. Anschließend wurde der Ansatz mit sat. NaHCO₃ (aq., 50 mL) versetzt und mit DCM (3 x 80 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Aufreinigung per MPLC (0-15% MeOH in DCM über 30 min) wurden 0.97 g (3.42 mmol, 98%) des Produktes **4.25** als gelbliches Öl erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 3.31 - 3.28 (m, 4H, 1-H ₂ + 5-H ₂), 2.66 - 2.62 (m, 2H, ½ (2-H ₂ + 3-H ₂), 2.59 - 2.55 (m, 2H, ½ (2-H ₂ + 3-H ₂), 2.42 - 2.36 (m, 1H, 6-H), 1.78 - 1.65 (m, 4H, H _{aliph.}), 1.64 - .58 (m, 2H, H _{aliph.}), 1.56 - 1.54 (m, 1H, H _{aliph.}), 1.39 (s, 9H, Boc), 1.26 - 1.00 (m, 5H, H _{aliph.}).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 154.5 (CO _{Boc}), 78.1 (C _{q Boc}), 63.6/63.4 (C6), 51.6/51.3 (C1/C5)*, 50.6/50.4 (C1/C5)*, 47.9/47.5 (C2/C3)*, 45.4/44.8 (C2/C3)*, 28.7 (2C, C _{aliph.}), 28.4 (C _{aliph.}), 28.1 (3C, Boc), 25.8 (C _{aliph.}), 25.4 (2C, C _{aliph.}).
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₃₀ N ₂ O ₂ H (M+H) ⁺ ber.: 283.2380 gef.: 283.2374
EA:	Für C ₁₆ H ₃₀ N ₂ O ₂ x 0.5 H ₂ O ber./gef. (%) N: 9.61 / 9.71 C: 65.94 / 66.16 H: 10.72 / 10.45

6.4.6 Verbindung 4.18



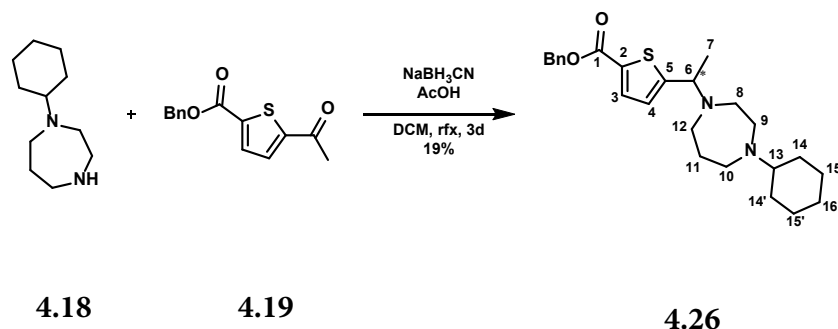
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.25	1.00	3.00	0.85	282.43		
TFA	5.50	16.5	1.88	114.02	1.49	1.3
DCM			2.5 mL/mmol			7.5

N-Boc-*N*-Cyclohexyl-homopiperazin (**4.25**, 0.85 g, 3.00 mmol, 1.00 äq) wurde in DCM (7.5 mL) gelöst und tropfenweise mit TFA (1.3 mL, 16.5 mmol, 5.50 äq) versetzt. Der Ansatz wurde für 12 h bei RT gerührt und anschließend mit 2 M NaOH (aq., 30 mL) und EtOAc (30 mL) versetzt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit Brine gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Anschließend wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, dabei wurden 0.35 g (1.91 mmol, 63%) des Rohproduktes **4.18** als braunes Öl erhalten. Dieses wurde ohne weitere Aufreinigung umgesetzt.

¹H-NMR: (250 MHz, DMSO-d₆, 300 K); *¹ = überlagert mit H₂O; *² = Genaue Zuordnung nicht möglich

δ (ppm) = 3.80 (s(b), 1H, 1-NH)*¹, 2.83 (t, ³J = 6.0 Hz, 2H, 1-H₂/5-H₂)*², 2.79 - 2.72 (m, 2H, 1-H₂/5-H₂)*², 2.70 - 2.59 (m, 4H, 2-H₂ + 3-H₂), 2.39 (sm, 1H, 6-H), 1.78 - 1.51 (m, 8H, H_{aliph.})*², 1.25 - 0.95 (m, 6H, H_{aliph.})*².

6.4.7 Verbindung 4.26

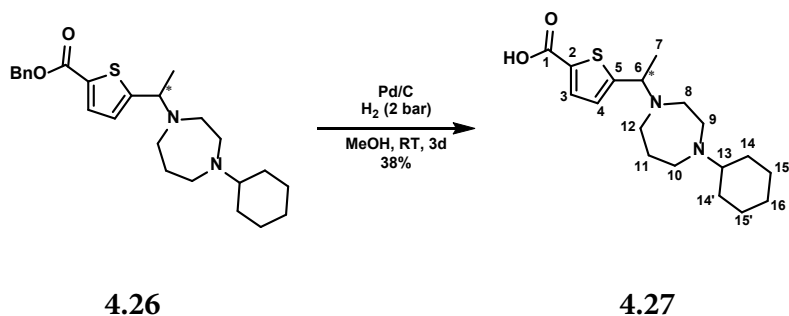


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.19	1.00	1.26	0.33	260.31		
<i>N</i> -Cyclohexyl-homopiperazin	1.51	1.91	0.35	182.31		
Essigsäure	2.00	2.52	0.15	60.05	1.05	0.14
NaBH ₃ CN	1.51	1.91	0.12	62.84		
DCM			1.5 mL/mmol			1.9

Eine Lösung von **4.19** (0.33 g, 1.26 mmol, 1.00 äq) in DCM (1.9 mL) wurde mit *N*-Cyclohexylhomopiperazin (**4.18**, 0.35 g, 1.91 mmol, 1.51 äq), Essigsäure (0.14 mL, 2.52 mmol, 2.00 äq) und NaBH₃CN (0.12 g, 1.91 mmol, 1.51 äq) sowie Molsieb (3 Å) versetzt und für 3 d unter rfx gerührt. Nach Ablauf der Zeit wurde der Ansatz auf RT abgekühlt, filtriert und der Filterkuchen mit DCM (2 x 10 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde mit 1 M NaOH (aq., 20 mL) und H₂O (20 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die Aufreinigung des Rohproduktes mittels MPLC (DCM/MeOH, 0-10% über 30 min) ergab 0.10 g (0.24 mmol, 19%) des Produktes **4.26** als gelbes Harz.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, CDCl₃, 300 K); H_{e/a} = H_{equatorial} oder H_{axial}; * = Aufspaltung durch Rotationsisomerie der Carboxylgruppe; *¹ = eindeutige Zuordnung nicht möglich</p> <p>δ (ppm) = 7.67 (d, ³J = 3.7 Hz, 1H, 3-H), 7.48 - 7.29 (m, 5H, H_{arom. Bn}), 6.84 (dd, ³J = 3.7 Hz, ⁴J = 1.2 Hz, 1H, 4-H), 5.33 (d, ²J = 12.3 Hz, 1H, Ph-CH_a Bn)*, 5.30 (d, ²J = 12.3 Hz, 1H, Ph-CH_b Bn)*, 4.05 (dq, ³J = 6.9 Hz, ⁴J = 0.9 Hz, 1H, 6-H), 2.85 - 2.64 (m, 8H, 8-H₂, 9-H₂, 10-H₂, 12-H₂)*¹, 2.47 (sm, 1H, 13-H), 1.90 - 1.70 (m, 6H, 11-H₂ + 14/14'-H_{e/a} + 15/15'-H_{e/a})*¹, 1.61 (d, ²J = 12.6 Hz, 1H, 16-H_{e/a}), 1.39 (d, ³J = 6.9 Hz, 3H, 7-H₃), 1.27 - 1.14 (m, 4H, 14/14'-H_{e/a} + 15/15'-H_{e/a})*¹, 1.11 - 1.02 (m, 1H, 16-H_{e/a}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, CDCl₃, 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich</p> <p>δ (ppm) = 162.6 (C1), 158.6 (C5), 136.2 (C_q Benzyl), 133.6 (C3), 131.8 (C2), 128.7 (C_{arom. Bn})*, 128.3 (C_{arom. Bn})*, 128.3 (C_{arom. Bn})*, 124.4 (C4), 66.6 (Ph-CH₂ Bn), 64.3 (C6), 60.2 (C13), 52.4 (C_{aliph.} (C8/9/10/12))*¹, 50.5 (C_{aliph.} (C8/9/10/12))*¹, 50.1 (C_{aliph.} (C8/9/10/12))*¹, 29.2 (C_{aliph.} (C11/14/14'/15/15'/16))*¹, 29.1 (C_{aliph.} (C11/14/14'/15/15'/16))*¹, 28.9 (C_{aliph.} (C11/14/14'/15/15'/16))*¹, 26.5 (C_{aliph.} (C11/14/14'/15/15'/16))*¹, 26.2 (C_{aliph.} (C11/14/14'/15/15'/16))*¹, 15.7 (C7).</p>
HR-MS:	<p>Für C₂₅H₃₄N₂O₂SH (M+H)⁺</p> <p>ber.: 427.2414</p> <p>gef.: 427.2405</p>
EA:	<p>Für C₂₅H₃₄N₂O₂S ber./gef. (%)</p> <p>N: 6.57 / 6.62</p> <p>C: 70.38 / 70.72</p> <p>H: 8.03 / 8.43</p>

6.4.8 Verbindung 4.27

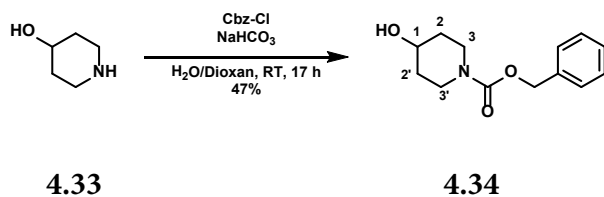


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.26	1.00	0.55	0.24	426.62		
Pd/C (10% Pd)	2 mol%	0.01	0.01	106.42		
MeOH			6 mL/mmol			3.3

Eine Lösung von **4.26** (0.24 g, 0.55 mmol, 1.00 äq) in MeOH (3.3 mL) wurde mit Pd/C (10% Pd, 0.01 g, 0.01 mmol, 2 mol%) versetzt und unter H₂-Atmosphäre (2 bar) für 3 d gerührt. Anschließend wurde der Ansatz über Celite filtriert, der Filterkuchen mit MeOH gewaschen und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Die Aufreinigung des Rohproduktes mittels MPLC (DCM/MeOH 0-15% über 30 min, dann 15% für 10 min) ergab 0.07 g (0.21 mmol, 38 %) des Produktes **4.27** als farblosen Feststoff.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ + TFA, 300 K); H _{e/a} = H _{equatorial} oder H _{axial} ; * ¹ = überlagert mit TFA und H ₃ O ⁺ , Integral ungenau; * ² = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 12.61 (s(b), 1H, 1-OOH)* ¹ , 10.04 (s, 1H, 6-NH ⁺), 7.72 (d, ³ J = 3.4 Hz, 1H, 3-H), 7.41 - 7.37 (m, 1H, 4-H), 5.01 (s(b), 1H, 6-H), 3.59 (s(b), 4H, 8-H ₂ , 12-H ₂)* ² , 3.38 (s(b), 4H, 9-H ₂ , 10-H ₂)* ² , 3.27 (t, ³ J = 11.9 Hz, 1H, 13-H), 2.28 - 1.89 (m, 4H, 11-H ₂ + 14/14'-H _{e/a}), 1.80 (d, ² J = 12.6 Hz, 2H, 15/15'-H _{e/a}), 1.72 - 1.66 (m, 3H, 7-H ₃), 1.59 (d, ² J = 12.6 Hz, 1H, 16-H _{e/a}), 1.38 (s(b), 2H, 14/14'-H _{e/a}), 1.25 (q, ² J = 12.8 Hz, 2H, 15/15'-H _{e/a}), 1.14 - 1.04 (m, 1H, 16-H _{e/a}).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ + TFA, 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 162.5 (C1), 158.6 (q, ² J _{C,F} = 37.2 Hz, COOH _{TFA}), 136.6 - 136.3 (2C, C5, C2), 133.1 (C3), 130.9 - 130.4 (C4), 115.4 (q, ¹ J _{C,F} = 286 Hz, CF ₃ TFA), 65.7 (C6), 59.9 (C13), 48.8 (C _{aliph.})*, 46.0 - 45.6 (C _{aliph.})*, 26.2 (C _{aliph.})*, 24.6 (C _{aliph.})*, 24.4 (C _{aliph.})*, 21.2 - 21.0 (C _{aliph.})*, 16.9 (C7).
HR-MS:	Für C ₁₈ H ₂₈ N ₂ O ₂ SH (M+H) ⁺ ber.: 337.1944 gef.: 337.1948
EA:	Für C ₁₈ H ₂₈ N ₂ O ₂ S x 1.25 H ₂ O ber./gef. (%) N: 7.80 / 7.65 C: 60.22 / 60.30 H: 8.56 / 8.49
Smp.	Zersetzung bei > 240°C

6.4.9 Verbindung 4.34

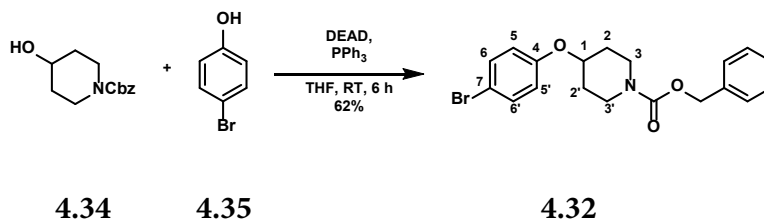


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
Cbz-Cl	1.00	14.3	2.43	170.60	1.22	2.0
4-Hydroxy- piperidin	1.05	15.0	1.52	101.15		
NaHCO ₃	1.16	16.5	1.39	84.01		
H ₂ O			0.42 mL/mmol			6.3
Dioxan			0.42 mL/mmol			6.3

4-Hydroxypiperidin (**4.33**, 1.52 g, 15.0 mmol, 1.05 äq) wurde in H₂O (6.3 mL) gelöst und mit NaHCO₃ (1.39 g, 16.5 mmol, 1.16 äq) versetzt. Dann wurde eine Lösung aus Cbz-Cl (2.0 mL, 14.3 mmol, 1.00 äq) in Dioxan (6.3 mL) zugetropft und das Reaktionsgemisch für 17 h bei RT gerührt. Anschließend wurde der Ansatz am Rotationsverdampfer eingengt, mit 1 M HCl (aq., 10 mL) versetzt und mit EtOAc (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit Brine (1 x 30 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-5% MeOH in DCM) aufgereinigt, dabei wurden 1.56 g (6.64 mmol, 47%) des Produktes **4.34** als farbloses Öl erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, CDCl₃, 300 K); H_{e/a} = H_{equatorial} oder H_{axial}</p> <p>δ (ppm) = 7.39 - 7.29 (m, 5H, H_{arom. Cbz}), 5.12 (s, 2H, Ph-CH₂ Cbz), 3.92 (s(b), 2H, 3/3'-H_{e/a}), 3.86 (sm, 1H, 1-H), 3.14 (ddd, ²J = 13.4 Hz, ³J_{trans} = 9.7 Hz, ³J_{cis} = 3.4 Hz, 2H, 3/3'-H_{e/a}), 1.86 (s(b), 2H, 2/2'-H_{e/a}), 1.72 (s, 1H, 1-OH), 1.56 - 1.40 (m(b), 2H, 2/2'-H_{e/a}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, CDCl₃, 300 K);</p> <p>δ (ppm) = 155.4 (Cbz-CO), 136.9 (Cbz-C_q), 128.6 (2C, Cbz-C_{arom.}), 128.1 (Cbz-C_{arom.}), 128.0 (2C, Cbz-C_{arom.}), 67.5 (C1), 67.3 (Cbz-CH₂), 41.5 (2C, C3/3'), 34.2 (2C, C2/2').</p>
HR-MS:	<p>Für C₁₃H₁₇N₁O₃Na (M+Na)⁺</p> <p>ber.: 258.1101</p> <p>gef.: 258.1108</p>

6.4.10 Verbindung 4.32

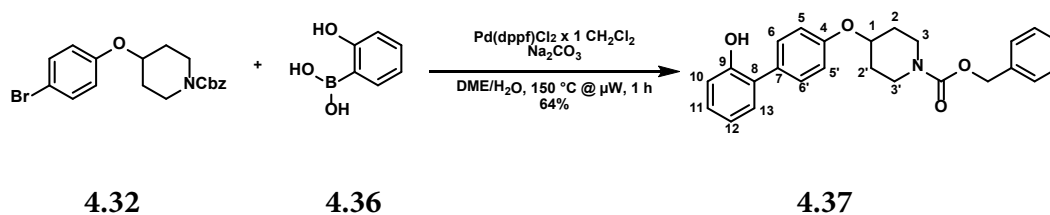


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4-Bromphenol	1.00	0.57	0.10	173.01		
4.34	1.50	0.85	0.20	235.28		
PPh ₃	1.50	0.85	0.22	262.29		
DEAD	1.30	0.74	0.13	174.16	0.96	0.13
THF _{abs.}			2.8 mL/mmol			1.6

Eine Mischung aus 4-Bromphenol (**4.35**, 0.10 g, 0.57 mmol, 1.00 äq), **4.34** (0.20 g, 0.85 mmol, 1.50 äq) und PPh₃ (0.22 g, 0.85 mmol, 1.50 äq) in THF_{abs.} (1.6 mL) wurde unter Argon tropfenweise mit DEAD (0.13 mL, 0.74 mmol, 1.30 äq) versetzt und anschließend für 6 h bei RT gerührt. Nach dieser Zeit wurden sat. NH₄Cl-Lsg. (aq., 10 mL) und EtOAc (10 mL) zugefügt, die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit EtOAc (2 x 30 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit Brine (10 mL) gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in Et₂O (20 mL) gelöst und die unlöslichen Rückstände durch Filtration entfernt. Das Filtrat wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-20% EtOAc in CH über 33 min) gereinigt, wobei 0.14 g (0.35 mmol, 62%) des Produktes **4.32** als farbloses Öl erhalten wurden.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); * = Signal liegt unter dem H₂O Signal; H_{e/a} = H_{equatorial} oder H_{axial}</p> <p>δ (ppm) = 7.43 (d, ³J = 9.2 Hz, 2H, 6/6'-H), 7.39 - 7.30 (m, 5H, Ph_{Cbz}), 6.95 (d, ³J = 9.2 Hz, 2H, 5/5'-H), 5.08 (s, 2H, Ph-CH₂ Cbz), 4.57 (sm, 1H, 1-H), 3.74 - 3.69 (m, 2H, 3/3'-H_{e/a}), 3.33 - 3.27 (m, 2H, 3/3'-H_{e/a})*, 1.94 - 1.89 (m, 2H, 2/2'-H_{e/a}), 1.55 (sm, 2H, 2/2'-H_{e/a}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K);</p> <p>δ (ppm) = 156.2 (CO_{Cbz}), 154.4 (C4), 136.9 (C_q Cbz), 132.2 (2C, C6/6'), 128.4 (2C, C_{arom.} Cbz), 127.8 (C_{arom.} Cbz), 127.5 (2C, C_{arom.} Cbz), 118.1 (2C, C5/5'), 112.0 (C7), 72.0 (C1), 66.2 (Ph-CH₂ Cbz), 40.7 (2C, C3/3'), 30.1 (2C, C2/2').</p>
HR-MS:	<p>Für C₁₉H₂₀BrNO₃Na (M+Na)⁺</p> <p>ber.: 412.0519/414.0501</p> <p>gef.: 412.0530/414.0510</p>
EA:	<p>Für C₁₉H₂₀BrNO₃ ber/gef. (%)</p> <p>N: 3.59 / 3.62</p> <p>C: 58.47 / 58.27</p> <p>H: 5.17 / 5.04</p>

6.4.11 Verbindung 4.37

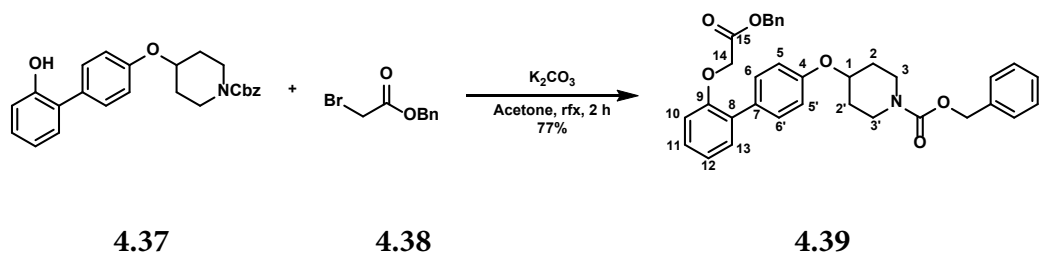


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.32	1.00	1.03	0.40	390.28		
2-Hydroxyphenyl- boronsäure	1.20	1.24	0.17	137.93		
[Pd(dppf)Cl ₂] x 1 DCM	0.02	0.02	16 mg	816.64		
Na ₂ CO ₃	2.00	2.06	0.22	105.99		
DME/H ₂ O (2:1)			11.5 mL/mmol			12

Eine Lösung von **4.32** (0.40 g, 1.03 mmol, 1.00 äq), 2-Hydroxyphenylboronsäure (**4.36**, 0.17 g, 1.24 mmol, 1.20 äq), [Pd(dppf)Cl₂] x 1 DCM (16 mg, 0.02 mmol, 0.02 äq) und Na₂CO₃ (0.22 g, 2.06 mmol, 2.00 äq) in DME/H₂O (2:1, 12 mL) wurde mit Argon gespült (5 min) und anschließend in der Mikrowelle (150 °C, 150 W, 1 h) gerührt. Danach wurde der Ansatz mit H₂O (20 mL) versetzt und mit EtOAc (3 x 40 mL) extrahiert, die vereinigte organische Phase wurde mit Brine (30 mL) gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-20% EtOAc in CH über 20 min) gereinigt, wobei 0.27 g (0.66 mmol, 64%) des Produktes **4.37** als farbloses Wachs erhalten wurden.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); * = Signal liegt unter dem H₂O Signal; H_{e/a} = H_{equatorial} oder H_{axial}</p> <p>δ (ppm) = 9.38 (s, 1H, 9-OH), 7.46 (d, ³J = 8.3 Hz, 2H, 6/6'-H), 7.40 - 7.32 (m, 5H, H_{arom. Cbz}), 7.21 (d, ³J = 7.7 Hz, 1H, 13-H), 7.11 (dd, ³J = 8.0, 7.6 Hz, 1H, 11-H), 6.99 (d, ³J = 7.7 Hz, 2H, 5/5'-H), 6.91 (d, ³J = 8.3 Hz, 1H, 10-H), 6.84 (dd, ³J = 7.5 Hz, 1H, 12-H), 5.10 (s, 2H, Ph-CH₂ Cbz), 4.60 (s(b), 1H, 1-H), 3.76 - 3.73 (m, 2H, 3/3'-H_{e/a}), 3.40 - 3.23 (m(b), 2H, 3/3'-H_{e/a})*, 1.96 - 1.94 (m, 2H, 2/2'-H_{e/a}), 1.62 - 1.56 (m, 2H, 2/2'-H_{e/a}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K);</p> <p>δ (ppm) = 155.6 (CO_{Cbz}), 154.4 (C4), 154.1 (C9), 137.0 (C_q Cbz), 131.1 (C8), 130.1 (2C, C6/6'), 130.0 (C11), 128.4 (2C, C_{arom. Cbz}), 127.9 (C7), 127.8 (C_{arom. Cbz}), 127.5 (2C, C_{arom. Cbz}), 127.3 (C13), 119.3 (C12), 115.9 (C10), 115.4 (2C, C5/5'), 71.6 (C1), 66.1 (Ph-CH₂ Cbz), 40.8 (2C, C3/3'), 30.3 (2C, C2/2').</p>
HR-MS:	<p>Für C₂₅H₂₅NO₄Na (M+Na)⁺</p> <p>ber.: 426.1676</p> <p>gef.: 426.1687</p>
EA:	<p>Für C₂₅H₂₅NO₄ ber./gef. (%)</p> <p>N: 3.47 / 3.04</p> <p>C: 74.42 / 74.06</p> <p>H: 6.25 / 6.20</p>

6.4.12 Verbindung 4.39

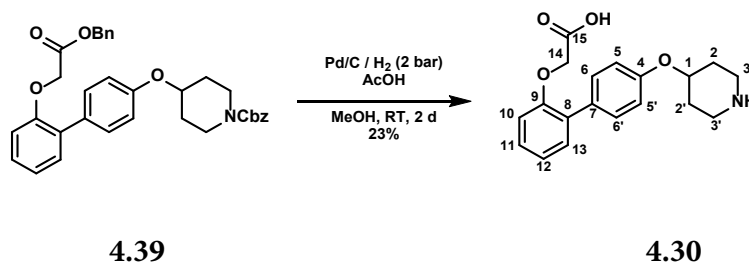


	äq	n [mmol]	m [mg]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [μL]
4.37	1.00	0.08	34	403.48		
Bromessigsäure- benzylester	1.10	0.09	21	229.07	1.45	14
K ₂ CO ₃	1.50	0.12	17	138.20		
Aceton			6.3 mL/mmol			500

Eine Lösung von Bromessigsäurebenzylester (**4.38**, 14 μL, 0.09 mmol, 1.10 äq) in Aceton (0.5 mL) wurde mit **4.37** (34 mg, 0.08 mmol, 1.00 äq) und K₂CO₃ (17 mg, 0.12 mmol, 1.50 äq) versetzt und für 2 h unter rfx gerührt. Nach Abkühlen auf RT wurde die Lösung mit Aceton (0.5 mL) versetzt und filtriert. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck zur Trockne eingengt, der Rückstand an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (10 - 30% EtOAc in CH über 32 min) gereinigt. Es wurden 34 mg (0.06 mmol, 77%) des Produktes **4.39** als gelbliches Wachs erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); * = Signal liegt unter dem H₂O Signal; H_{e/a} = H_{equatorial} oder H_{axial}</p> <p>δ (ppm) = 7.48 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, 6/6'-H), 7.40 - 7.31 (m, 10H, Ph_{OBn}/Ph_{Cbz}), 7.29 (dd, ³J = 7.5 Hz, ⁴J = 1.7 Hz, 1H, 13-H), 7.25 (ddd, ³J = 8.1, 7.5 Hz, ⁴J = 1.7 Hz, 1H, 11-H), 7.03 (ddd, ³J = 7.5 Hz, ⁴J = 0.9 Hz, 1H, 12-H), 7.00 (dd, ³J = 8.3 Hz, ⁴J = 0.9 Hz, 1H, 10-H), 6.96 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H, 5/5'-H), 5.19 (s, 2H, Ph-CH₂_{OBn}), 5.10 (s, 2H, Ph-CH₂_{Cbz}), 4.88 (s, 2H, 14-H₂), 4.62 - 4.58 (sm, 1H, 1-H), 3.76 - 3.73 (m, 2H, 3/3'-H_{e/a}), 3.39 - 3.23 (m(b), 2H, 3/3'-H_{e/a})*, 1.97 - 1.93 (m, 2H, 2/2'-H_{e/a}), 1.59 (sm, 2H, 2/2'-H_{e/a}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K);</p> <p>δ (ppm) = 168.7 (C15), 155.9 (CO_{Cbz}), 154.4 (C4), 154.2 (C9), 137.0 (C_q OBn), 135.6 (C_q Cbz), 130.4 (2C, C6/6'), 130.4 (C13), 130.3 (C8), 129.5 (C7), 128.4 (4C, C_{arom.}), 128.1 (C11), 127.9 (2C, C_{arom.}), 127.8 (C_{arom.}), 127.5 (2C, C_{arom.}), 121.5 (C12), 115.3 (2C, C5/5'), 112.3 (C10), 71.6 (C1), 66.2 (Ph-CH₂_{Cbz}), 66.0 (Ph-CH₂_{OBn}), 64.8 (C14), 40.8 (2C, C3/3'), 30.3 (2C, C2/2').</p>
HR-MS:	<p>Für C₃₄H₃₃NO₆Na (M+Na)⁺</p> <p>ber.: 574.2200</p> <p>gef.: 574.2210</p>

6.4.13 Verbindung 4.30

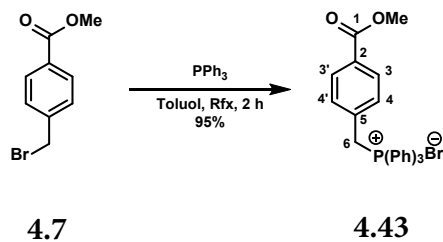


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.39	1.00	0.39	0.21	551.64		
Pd/C	kat.					
EtOH			7.7 mL/mmol			3.0

4.39 (0.21 g, 0.39 mmol, 1.00 äq) wurde in EtOH (3 mL) dispergiert, mit AcOH (2 Tropfen) und Pd/C (kat.) versetzt und für 2 d bei RT unter H₂-Atmosphäre (2 bar) gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 1 M HCl (aq., 5 mL) aufgenommen und mittels RP-MPLC (MeOH in H₂O, 20 - 50% über 36 min, 50 - 100% über 25 min) gereinigt. Es wurden 29 mg (0.09 mmol, 23%) des Produktes **4.30** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); * = Signale überlagern vollständig; H_{e/a} = H_{equatorial} oder H_{axial}</p> <p>δ (ppm) = 12.95 (s(b), 1H, 15-OOH), 9.02 (s(b), 2H, 3-NH₂⁺-3'), 7.51 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H, 6/6'-H), 7.29 - 7.24 (m, 2H, 11-H, 13-H), 7.03 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H, 5/5'-H), 7.02 (ddd, ³J = 7.1 Hz, ⁴J = 0.9 Hz, 1H, 12-H), 6.96 (d, ³J = 8.3 Hz, 1H, 10-H), 4.71 - 4.67 (m, 1H, 1-H)*, 4.69 (s, 2H, 14-H₂)*, 3.24 (ddd, ²J = 12.5 Hz, ³J_{trans} = 7.7 Hz, ³J_{cis} = 4.5 Hz, 2H, 3/3'-H_{e/a}), 3.08 (ddd, ²J = 12.5 Hz, ³J_{trans} = 8.7 Hz, ³J_{cis} = 3.7 Hz, 2H, 3/3'-H_{e/a}), 2.16 - 2.11 (m, 2H, 2/2'-H_{e/a}), 1.91 - 1.84 (m, 2H, 2/2'-H_{e/a}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K);</p> <p>δ (ppm) = 170.2 (C15), 155.5 (C9), 154.4 (C4), 130.8 (C8), 130.5 (2C, C6/6'), 130.3 (C11), 129.3 (C7), 128.1 (C13), 121.2 (C12), 115.3 (2C, C5/5'), 112.1 (C10), 69.0 (C1), 64.5 (C14), 40.4 (2C, C3/3'), 27.1 (2C, C2/2').</p>
HR-MS:	<p>Für C₁₉H₂₁NO₄H (M+H)⁺</p> <p>ber.: 328.1543</p> <p>gef.: 328.1552</p>
EA:	<p>Für C₁₉H₂₁NO₄ x 1 H₂O ber./gef. (%)</p> <p>N: 4.06 / 4.02</p> <p>C: 66.07 / 65.94</p> <p>H: 6.71 / 6.30</p>
Smp.	271.4 °C

6.4.14 Verbindung 4.43

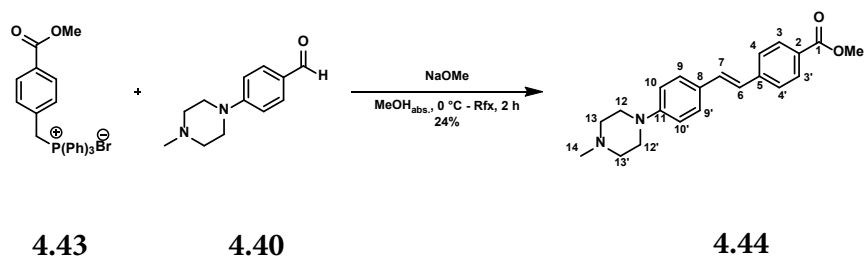


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
Methyl-(4-bromomethyl)-benzoat	1.00	1.31	0.30	229.07		
PPh ₃	1.20	1.57	0.41	262.28		
Toluol			2.3 mL/mmol			3

Eine Lösung von Methyl-(4-bromomethyl)-benzoat (**4.7**, 0.30 g, 1.31 mmol, 1.00 äq) in Toluol (3 mL) wurde mit PPh₃ (0.41 g, 1.57 mmol, 1.20 äq) versetzt und für 2 h unter Rfx gerührt. Anschließend wurde der Ansatz filtriert und der Niederschlag im Vakuum getrocknet. Dabei wurden 0.61 g (1.24 mmol, 95%) des Produktes **4.43** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 7.93 - 7.90 (m, 3H, H _{arom.}), 7.81 - 7.65 (m, 14H, H _{arom.}), 7.13 (dd, ³ J = 8.3 Hz, ⁴ J = 2.3 Hz, 2H, H _{arom.}), 5.33 (d, ² J _{H,P} = 16.3 Hz, 2H, 6-H ₂), 3.82 (s, 3H, 1-OMe).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 165.6 (C1), 135.1 (d, ⁴ J _{C,P} = 2.4 Hz, 3C, C _{arom.}), 134.0 (d, ³ J _{C,P} = 9.6 Hz, 6C, C _{arom.}), 133.6 (d, ² J _{C,P} = 8.4 Hz, C5), 131.2 (d, ³ J _{C,P} = 4.8 Hz, 2C, C4/4'), 130.1 (d, ² J _{C,P} = 12.0 Hz, 6C, C _{arom.}), 129.4 (C2), 129.4 (d, ⁴ J _{C,P} = 3.6 Hz, 2C, C3/3'), 117.5 (d, ¹ J _{C,P} = 85.2 Hz, 3C, C _{q Phenyl}), 52.2 (-OMe), 28.2 (d, ¹ J _{C,P} = 48.0 Hz, C6).
HR-MS:	Für C ₂₇ H ₂₄ O ₂ P (M) ⁺ ber.: 411.1508 gef.: 411.1516
EA:	Für C ₂₇ H ₂₄ O ₂ PBr x 0.5 H ₂ O ber./gef. (%) N: 0.00 / 0.00 C: 64.81 / 64.84 H: 5.04 / 5.01
Smp.	249.8 °C

6.4.15 Verbindung 4.44

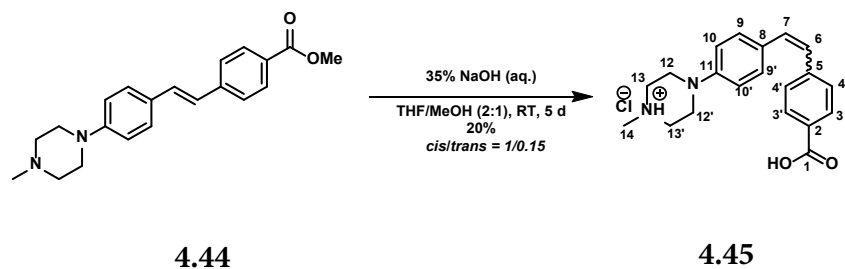


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
4.40	1.00	6.00	1.23	204.27		
4.43	1.10	6.60	3.24	491.36		
NaOMe (in MeOH)	2.60	15.6	0.36	23.0		9
MeOH _{abs.}			4.7 mL/mmol			28

4.43 (3.24 g, 6.60 mmol, 1.10 äq) wurde in MeOH_{abs.} (16 mL) suspendiert und mit frisch hergestelltem NaOMe (0.36 g Na in 9 mL MeOH, 15.6 mmol, 2.60 äq) versetzt. Die Lösung wurde für 40 min bei 45 °C gerührt, dann auf 0 °C gekühlt und tropfenweise mit einer Lösung von **4.40** (1.23 g, 6.00 mmol, 1.00 äq) in MeOH_{abs.} (12 mL) versetzt. Der Ansatz wurde für 1 h unter Rfx gerührt, auf RT abgekühlt und filtriert. Der Filterkuchen wurde mit kaltem MeOH (3 x 5 mL) gewaschen und im Vakuum getrocknet, dabei wurden 0.48 g (1.43 mmol, 24%) des *trans*-Produktes **4.44** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ + TFA, 300 K); H _{e/a} = H _{equatorial} oder H _{axial} δ (ppm) = 9.89 (s(b), 1H, 13-NH ⁺ -13'), 7.93 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.67 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 4/4'-H), 7.55 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 9/9'-H), 7.33 (d, ³ J _{trans} = 16.3 Hz, 1H, 7-H), 7.15 (d, ³ J _{trans} = 16.3 Hz, 1H, 6-H), 7.03 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 10/10'-H), 3.93 (d, ² J = 13.2 Hz, 2H, 13/13'-H _{e/a}), 3.84 (s, 3H, 1-OMe), 3.53 (d, ² J = 11.7 Hz, 2H, 12/12'-H _{e/a}), 3.16 (s(b), 2H, 13/13'-H _{e/a}), 3.03 (dd, ² J = 12.3 Hz, ³ J = 12.3 Hz, 2H, 12/12'-H _{e/a}), 2.87 (s, 3H, 14-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ + TFA, 300 K); δ (ppm) = 166.1 (C1), 158.5 (q, ² J _{C,F} = 38.4 Hz, COOH _{TFA}), 149.4 (C11), 142.4 (C5), 131.1 (C7), 129.6 (2C, C3/3'), 128.3 (C2), 128.0 (2C, C4/4'), 127.8 (C6), 126.2 (2C, C9/9'), 124.4 (C8), 115.8 (2C, C10/10'), 115.2 (q, ¹ J _{C,F} = 288 Hz, CF ₃ TFA), 52.3 (-OMe), 52.0 (2C, C13/13'), 45.2 (2C, C12/12'), 42.2 (C14).
HR-MS:	Für C ₂₁ H ₂₄ N ₂ O ₂ H (M+H) ⁺ ber.: 337.1911 gef.: 337.1919
EA:	Für C ₂₁ H ₂₄ N ₂ O ₂ x 0.75 H ₂ O ber./gef. (%) N: 8.01 / 7.99 C: 72.08 / 72.30 H: 7.34 / 6.99
Smp.	242.2 °C

6.4.16 Verbindung 4.45

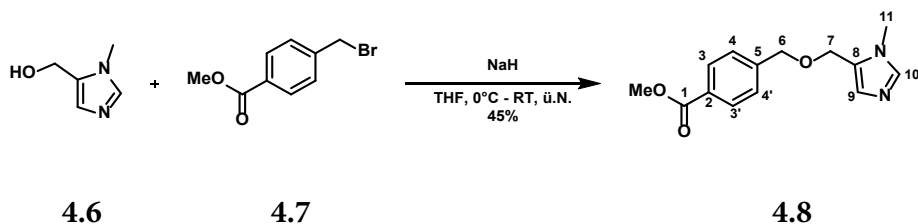


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.44	1.00	0.30	0.10	336.44		
35% NaOH (aq.)			0.2 mL/mmol			60 μ L
THF			6 mL/mmol			1.8
MeOH			3 mL/mmol			0.9

Eine Lösung von **4.44** (0.10 g, 0.30 mmol, 1.00 äq) in THF (1.8 mL) und MeOH (0.9 mL) wurde mit 35% NaOH (aq., 60 μ L) versetzt und für 5 d bei RT gerührt. Anschließend wurde der Ansatz mit MeOH (10 mL) verdünnt, filtriert und das Filtrat zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert, mittels MPLC (0-15% MeOH in DCM über 30 min) gereinigt und das Produkt mit 2 M HCl (Et₂O) in das Hydrochlorid überführt. Dabei wurden 23 mg (0.06 mmol, 20%) des Produktes **4.45** (*cis/trans* = 1/0.15, bestimmt mittels ¹H-NMR) als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der Protonen normiert auf das jeweilige Isomer, bei Überlagerung normiert auf ein Isomer; H_{e/a} = H_{equatorial} oder H_{axial}</p> <p>δ (ppm) = 11.18 (s, 1H, 13-NH⁺-13'), 7.91 (d, ³J = 8.3 Hz, 2H, 3/3'-H_{trans}), 7.83 (d, ³J = 8.3 Hz, 2H, 3/3'-H_{cis}), 7.66 (d, ³J = 8.3 Hz, 2H, 4/4'-H_{trans}), 7.55 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, 9/9'-H_{trans}), 7.36 (d, ³J = 8.3 Hz, 2H, 4/4'-H_{cis}), 7.32 (d, ³J_{trans} = 16.0 Hz, 1H, 7-H_{trans}), 7.15 (d, ³J_{trans} = 16.3 Hz, 1H, 6-H_{trans}), 7.12 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H, 9/9'-H_{cis}), 7.03 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H, 10/10'-H_{trans}), 6.88 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H, 10/10'-H_{cis}), 6.63 (d, ³J_{cis} = 12.3 Hz, 1H, 7-H_{cis}), 6.53 (d, ³J_{cis} = 12.3 Hz, 1H, 6-H_{cis}), 3.90 (d, ²J = 12.6 Hz, 2H, 13/13'-H_{e/a trans}), 3.82 (d, ²J = 11.5 Hz, 2H, 13/13'-H_{e/a cis}), 3.48 - 3.43 (m, 2H, 13/13'-H_{e/a cis/trans}), 3.19 - 3.05 (m, 4H, 12/12'-H_{e+a cis/trans}), 2.80 - 2.74 (m, 3H, 14-H_{3 cis/trans}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der C-Atome normiert auf das jeweilige Isomer. Zuweisung zum Isomer erfolgte auf Grundlage der „Signalintensitäten“.</p> <p>δ (ppm) = 166.9 (C1_{cis/trans}), 148.7 (C11_{cis/trans}), 142.1 (C5_{cis/trans}), 131.4 (C7_{cis}), 130.7 (C7_{trans}), 129.7 (2C, C3/3'_{trans}), 129.6 (2C, C3/3'_{cis}), 129.4 (2C, C9/9'_{cis}), 129.0 (C2_{cis/trans}), 128.5 (2C, C4/4'_{cis}), 127.9 (2C, C9/9'_{trans}), 127.3 (C8_{cis/trans}), 126.8 (C6_{cis}), 125.9 (2C, C4/4'_{trans}), 124.4 (C6_{trans}), 115.6 (2C, C10/10'_{trans}), 115.1 (2C, C10/10'_{cis}), 51.9 (2C, C13/13'_{cis/trans}), 44.9 (2C, C12/12'_{trans}), 44.7 (2C, C12/12'_{cis}), 41.8 (C14_{cis/trans}).</p>
HR-MS:	<p>Für C₂₀H₂₃N₂O₂ (M)⁺</p> <p>ber.: 323.1754</p> <p>gef.: 323.1749</p>
Smp.	Zersetzung bei > 300 °C

6.4.17 Verbindung 4.8

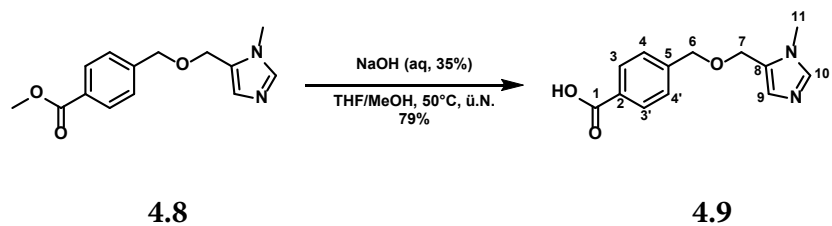


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
(1-Methyl-imidazol-5-yl)-methanol	1.00	1.00	0.11	112.13		
Methyl-(4-bromomethyl)-benzoat	1.10	1.10	0.25	229.07		
NaH (60% in Mineralöl)	2.50	2.50	0.10	23.99		
THF _{abs.}			16 mL/mmol			16

Im ausgeheizten Kolben wurde (1-Methylimidazol-5-yl)-methanol (**4.6**, 0.11 g, 1.00 mmol, 1.00 äq) in THF_{abs.} (10 mL) gelöst und mit NaH (60% in Mineralöl, 0.10 g, 2.50 mmol, 2.50 äq) versetzt. Der Ansatz wurde für 1 h bei RT gerührt, anschließend wurde bei 0 °C eine Lösung von Methyl-(4-bromomethyl)-benzoat (**4.7**, 0.25 g, 1.10 mmol, 1.10 äq) in THF_{abs.} (6 mL) zugetropft und ü. N. bei RT gerührt. Am nächsten Tag wurde das Reaktionsgemisch mit H₂O (10 mL) und 2 M K₂CO₃ (aq., 10 mL) versetzt und mit EtOAc (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit Brine gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Aufreinigung des Rohproduktes mittels MPLC (0-15% MeOH in DCM über 30 min) wurden 0.12 g (0.45 mmol, 45%) des Produktes **4.8** als gelbes Öl erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 7.94 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.60 (s, 1H, 10-H), 7.46 (d, ³ J = 8.0 Hz, 2H, 4/4'-H), 6.91 (s, 1H, 9-H), 4.55 (s, 2H, 6-H ₂ /7-H ₂)*, 4.54 (s, 2H, 6-H ₂ /7-H ₂)*, 3.85 (s, 3H, 1-OMe), 3.61 (s, 3H, 11-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 166.0 (C1), 143.8 (C5), 139.2 (C10), 129.1(2C, C3/3'), 129.1 (C9), 128.6 (C8), 127.9 (C2), 127.4 (2C, C4/4'), 70.1 (C6), 60.9 (C7), 52.0 (1-OMe), 30.9 (C11).
HR-MS:	Für C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₃ H (M+H) ⁺ ber.: 261.1234 gef.: 261.1232

6.4.18 Verbindung 4.9

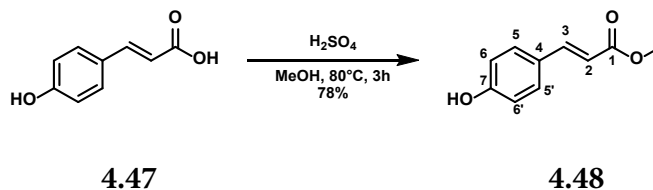


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.8	1.00	1.27	0.33	260.29		
NaOH (aq, 35%)			1 mL/mmol			1.3
MeOH			5 mL/mmol			6.4
THF			10 mL/mmol			13

4.8 (0.33 g, 1.27 mmol, 1.00 äq) wurde in einer Mischung aus THF (13 mL) und MeOH (6.4 mL) gelöst, mit 35% NaOH (aq., 1.3 mL) versetzt und ü. N. bei 50 °C gerührt. Am nächsten Tag wurde der Ansatz mit 4 M HCl (aq.) auf pH 6-7 eingestellt, filtriert und das Filtrat im Vakuum bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde in MeOH (10 mL) aufgenommen und an Silicagel adsorbiert. Die Aufreinigung mittels MPLC (0-15% MeOH in DCM über 30 min) ergab 0.25 g (1.00 mmol, 79%) des Produktes **4.9** als farblosen Feststoff.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 12.83 (s(b), 1H, 1-OOH), 7.89 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.59 (s, 1H, 10-H), 7.40 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 4/4'-H), 6.89 (s, 1H, 9-H), 4.51 (s, 2H, 6-H ₂ /7-H ₂)*, 4.50 (s, 2H, 6-H ₂ /7-H ₂)*, 3.58 (s, 3H, 11-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 167.1 (C1), 143.2 (C5), 139.2 (C10), 129.9 (C8), 129.3 (2C, C3/3'), 129.0 (C9), 127.9 (C2), 127.3 (2C, C4/4'), 70.2 (C6), 60.9 (C7), 31.0 (C11).
HR-MS:	Für C ₁₃ H ₁₃ N ₂ O ₃ (M-H) ⁻ ber.: 245.0932 gef.: 245.0938
EA:	Für C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₃ ber./gef (%) N: 11.38 / 11.22 C: 63.40 / 63.05 H: 5.73 / 5.75
Smp.	208.1 °C

6.4.19 Verbindung 4.48

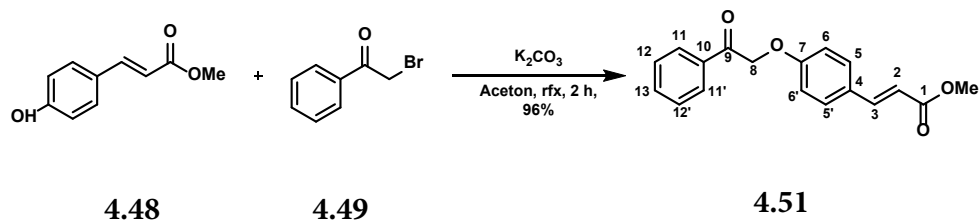


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
<i>p</i> -Cumarsäure	1.00	10.0	1.64	164.16		
H ₂ SO ₄ konz.	5.00	50.0	4.90	98.08	1.84	2.7
MeOH			1.6 mL/mmol			16

p-Cumarsäure (**4.47**, 1.64 g, 10.0 mmol, 1.00 äq) wurde in MeOH (16 mL) gelöst und tropfenweise mit konz. H₂SO₄ (2.7 mL, 50.0 mmol, 5.00 äq) versetzt. Der Ansatz wurde für 3 h unter rfx gerührt, nach dem Abkühlen wurde das gewünschte Produkt durch Zusatz von sat. NaHCO₃ (aq., 100 mL) ausgefällt, mit sat. NaHCO₃ (aq., 3 x 10 mL) und H₂O (3 x 10 mL) gewaschen und im Vakuum getrocknet. Es wurden 1.39 g (7.79 mmol, 78%) des Produktes **4.48** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 9.98 (s, 1H, 7-OH), 7.56 (d, ³ J = 15.8 Hz, 1H, 3-H), 7.54 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 5/5'-H), 6.79 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 6/6'-H), 6.39 (d, ³ J = 15.8 Hz, 1H, 2-H), 3.69 (s, 3H, 1-OMe).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 167.0 (C1), 159.8 (C7), 144.7 (C3), 130.2 (2C, C5/5'), 125.0 (C4), 115.7 (2C, C6/6'), 113.9 (C2), 51.1 (-OMe).
HR-MS:	Für C ₁₀ H ₁₀ O ₃ H (M+H) ⁺ ber.: 179.0703 gef.: 179.0706
EA:	Für C ₁₀ H ₁₀ O ₃ ber./gef. (%) N: 0.00 / 0.00 C: 67.41 / 67.12 H: 5.66 / 5.68
Smp.	133.7 °C

6.4.20 Verbindung 4.51

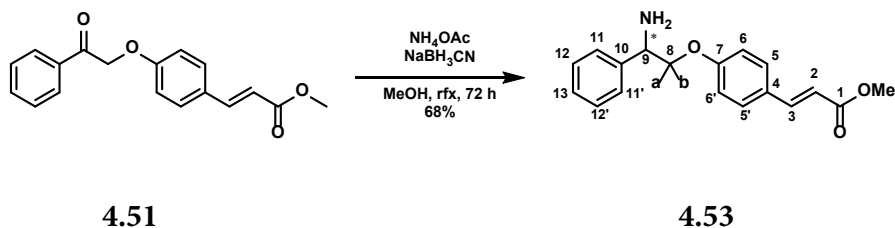


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
<i>p</i> -Cumarsäure-methylester	1.00	2.81	0.50	178.19		
2-Brom-acetophenon	1.10	3.09	0.62	199.05		
K ₂ CO ₃	1.50	4.21	0.58	138.20		
Aceton			3.6 mL/mmol			10

2-Brom-acetophenon (**4.49**, 0.62 g, 3.09 mmol, 1.10 äq) wurde in Aceton (10 mL) gelöst und *p*-Cumarsäuremethylester (**4.48**, 0.50 g, 2.81 mmol, 1.00 äq) zugefügt. Anschließend wurde der Ansatz mit K₂CO₃ (0.58 g, 4.21 mmol, 1.50 äq) versetzt und für 2 h unter rfx gerührt. Nach dem Abkühlen wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in H₂O (30 mL) aufgenommen und mit DCM (3 x 30 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt an Silicagel adsorbiert. Nach Aufreinigung mittels MPLC (0-40% EtOAc in CH über 50 min) wurden 0.80 g (2.70 mmol, 96%) des Produktes **4.51** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 8.04 - 8.02 (m, 2H, 11/11'-H), 7.70 (dddd, ³ J = 7.3 Hz, ⁴ J = 1.3 Hz, 1H, 13-H), 7.66 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 5/5'-H), 7.62 (d, ³ J = 16.0 Hz, 1H, 3-H), 7.58 (dd, ³ J = 7.7 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.02 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 6/6'-H), 6.49 (d, ³ J = 15.8 Hz, 1H, 2-H), 5.65 (s, 2H, 8-H ₂), 3.71 (s, 3H, 1-OMe).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 194.2 (C9), 166.8 (C1), 159.8 (C7), 144.2 (C3), 134.2 (C10), 133.8 (C13), 130.0 (2C, C11/11'), 128.8 (2C, C5/5'), 127.8 (2C, C12/12'), 126.9 (C4), 115.3 (C2), 115.0 (C6/6'), 70.1 (C8), 51.2 (-OMe).
HR-MS:	Für C ₁₈ H ₁₆ O ₄ H (M+H) ⁺ ber.: 297.1132 gef.: 297.1128
EA:	Für C ₁₈ H ₁₆ O ₄ ber./gef. (%) N: 0.00 / 0.00 C: 72.96 / 72.79 H: 5.44 / 5.52
Smp.	112.3 °C

6.4.21 Verbindung 4.53

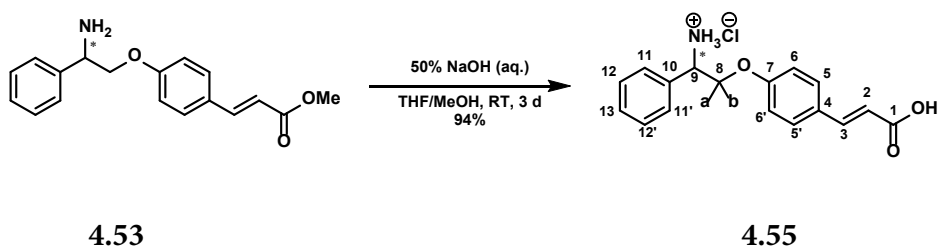


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.51	1.00	5.06	1.50	296.32		
NH ₄ OAc	12.5	63.3	4.88	77.08		
NaBH ₃ CN	3.73	18.9	1.19	62.84		
MeOH			10 mL/mmol			50

Eine Lösung von **4.51** (1.50 g, 5.06 mmol, 1.00 äq) in MeOH (50 mL) wurde mit vor-getrocknetem (80°C bei $3 \cdot 10^{-1}$ mbar für 5 h) NH₄OAc (4.88 g, 63.3 mmol, 12.5 äq) und NaBH₃CN (1.19 g, 18.9 mmol, 3.73 äq) versetzt und für 72 h unter rfx gerührt. Nach dem Erkalten wurde der Ansatz in H₂O (200 mL) aufgenommen, mit 4 M HCl (aq.) ein pH-Wert von < 2 eingestellt und die Lösung mit DCM (2 x 100 mL) gewaschen. Anschließend wurde der Ansatz mit festem K₂CO₃ versetzt, bis keine Gasentwicklung mehr beobachtet wurde, und mit EtOAc (3 x 150 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit Brine gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es wurden 1.02 g (3.43 mmol, 68%) des Produktes **4.53** als bräunlicher Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 7.64 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 5/5'-H), 7.60 (d, ³ J = 16.0 Hz, 1H, 3-H), 7.46 (dd, ³ J = 8.0 Hz, ⁴ J = 1.1 Hz, 2H, 11/11'-H), 7.33 (dd, ³ J = 7.6 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.25 (dddd, ³ J = 7.3 Hz, ⁴ J = 1.3 Hz, 1H, 13-H), 6.97 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 6/6'-H), 6.47 (d, ³ J = 16.0 Hz, 1H, 2-H), 4.24 (dd, ³ J _{cis} = 7.2, ³ J _{trans} = 5.2 Hz, 1H, 9-H), 4.07 (dd, ² J = 9.3 Hz, ³ J _{trans} = 5.2 Hz, 1H, 8-H _a), 3.99 (d, ² J = 9.5 Hz, ³ J _{cis} = 7.5 Hz, 1H, 8-H _b), 3.70 (s, 3H, 1-OMe), 2.19 (s(b), 2H, 9-NH ₂).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 166.8 (C1), 160.4 (C7), 144.2 (C3), 143.0 (C10), 130.1 (2C, C11/11'), 128.0 (2C, C5/5'), 127.0 (2C, C12/12'), 126.9 (C13), 126.7 (C4), 115.1 (C2), 115.0 (2C, C6/6'), 73.7 (C8), 54.3 (C9), 51.2 (-OMe).
HR-MS:	Für C ₁₈ H ₁₉ NO ₃ H (M+H) ⁺ ber.: 298.1438 gef.: 298.1446
EA:	Für C ₁₈ H ₁₉ NO ₃ x 0.25 H ₂ O ber./gef. (%) N: 4.64 / 4.76 C: 71.62 / 71.99 H: 6.51 / 6.44
Smp.	45.4 °C

6.4.22 Verbindung 4.55

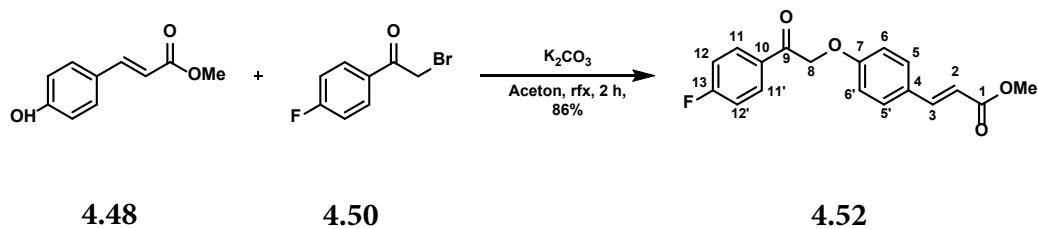


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.53	1.00	1.68	0.50	297.35		
THF			6 mL/mmol			10
MeOH			3 mL/mmol			5
50% NaOH (aq.)			0.2 mL/mmol			0.34

Eine Lösung von **4.53** (0.50 g, 1.68 mmol, 1.00 äq) in THF (10 mL) und MeOH (5 mL) wurde mit 50% NaOH (aq., 0.34 mL) versetzt und für 3 d bei RT gerührt. Der Ansatz wurde direkt an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-15% MeOH in DCM über 30 min, dann nochmal 10 min mit 15% MeOH) gereinigt. Dabei wurden 0.45 g (1.58 mmol, 94%) des Produktes als farbloser Feststoff erhalten. Das Produkt wurde durch Rühren in 4 M HCl (aq.) für 2 h und anschließendes Lyophilisieren in das entsprechende Hydrochlorid **4.55** überführt.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 12.23 (s(b), 1H, 1-OOH), 8.97 (s, 3H, 9-NH ₃ ⁺), 7.71 - 7.59 (m, 4H, H _{arom.}), 7.54 (d, ³ J = 15.8 Hz, 1H, 3-H), 7.47 - 7.40 (m, 3H, H _{arom.}), 7.05 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 6/6'-H), 6.40 (d, ³ J = 15.8 Hz, 1H, 2-H), 4.73 (s(b), 1H, 9-H), 4.42 (dd, ² J = 10.3 Hz, ³ J _{cis} = 7.5 Hz, 1H, 8-H _a), 4.38 (dd, ² J = 10.2 Hz, ³ J _{trans} = 5.0 Hz, 1H, 8-H _b).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 167.6 (C1), 159.2 (C7), 143.4 (C3), 134.7 (C10), 129.8 (2C, C11/11'), 128.9 (C13), 128.6 (2C, C12/12'), 127.8 (2C, C5/5'), 127.6 (C4), 117.0 (C2), 115.2 (2C, C6/6'), 68.7 (C8), 53.2 (C9).
HR-MS:	Für C ₁₇ H ₁₇ NO ₃ H (M+H) ⁺ ber.: 284.1281 gef.: 284.1290
EA:	Für C ₁₇ H ₁₇ NO ₃ x HCl x 0.25 H ₂ O ber./gef. (%) N: 4.32 / 4.30 C: 62.96 / 62.73 H: 5.75 / 5.54
Smp.	220.0 °C

6.4.23 Verbindung 4.52

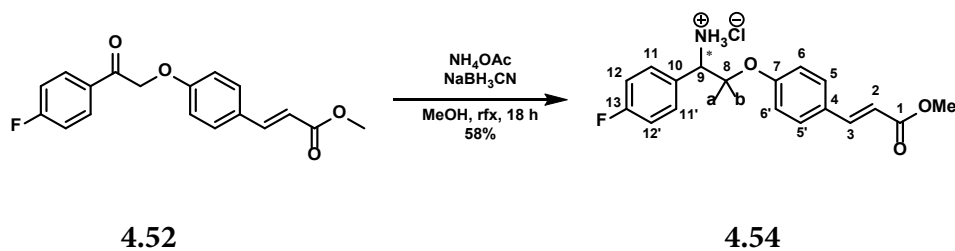


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
<i>p</i> -Cumarsäure-methylester	1.00	2.81	0.50	178.19		
2-Brom-4'-fluoro-acetophenon	1.10	3.10	0.67	217.04		
K ₂ CO ₃	1.50	4.21	0.58	138.20		
Aceton			3.6 mL/mmol			11

2-Brom-4'-fluoroacetophenon (**4.50**, 0.67 g, 3.10 mmol, 1.10 äq) wurde in Aceton (11 mL) gelöst und *p*-Cumarsäuremethylester (**4.48**, 0.50 g, 2.81 mmol, 1.00 äq) zugefügt. Anschließend wurde der Ansatz mit K₂CO₃ (0.58 g, 4.21 mmol, 1.50 äq) versetzt und für 2 h unter rfx gerührt. Nach dem Abkühlen wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in H₂O (30 mL) aufgenommen und mit DCM (3 x 30 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt an Silicagel adsorbiert. Nach Aufreinigung mittels MPLC (0-40% EtOAc in CH über 50 min) wurden 0.76 g (2.41 mmol, 86%) des Produktes **4.52** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 8.11 (dd, ³ J = 8.7 Hz, ⁴ J _{H,F} = 5.6 Hz, 2H, 11/11'-H), 7.66 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 5/5'-H), 7.61 (d, ³ J = 16.0 Hz, 1H, 3-H), 7.41 (dd, ³ J _{H,F} = 8.7 Hz, ³ J = 8.7 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.02 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 6/6'-H), 6.49 (d, ³ J = 16.0 Hz, 1H, 2-H), 5.64 (s, 2H, 8-H ₂), 3.71 (s, 3H, 1-OMe).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 192.8 (C9), 166.8 (C1), 165.3 (d, ¹ J _{C,F} = 251.9 Hz, C13), 159.8 (C7), 144.1 (C3), 131.1 (d, ⁴ J _{C,F} = 2.4 Hz, C10), 130.9 (d, ³ J _{C,F} = 9.6 Hz, 2C, C11/11'), 130.0 (2C, C5/5'), 127.0 (C4), 115.9 (d, ² J _{C,F} = 21.6 Hz, 2C, C12/12'), 115.3 (C2), 115.0 (2C, C6/6'), 70.1 (C8), 51.2 (-OMe).
HR-MS:	Für C ₁₈ H ₁₅ FO ₄ Na (M+Na) ⁺ ber.: 337.0847 gef.: 337.0855
EA:	Für C ₁₈ H ₁₅ FO ₄ x 0.5 H ₂ O ber./gef. (%) N: 0.00 / 0.00 C: 66.87 / 67.30 H: 4.99 / 4.81
Smp.	137.6 °C

6.4.24 Verbindung 4.54

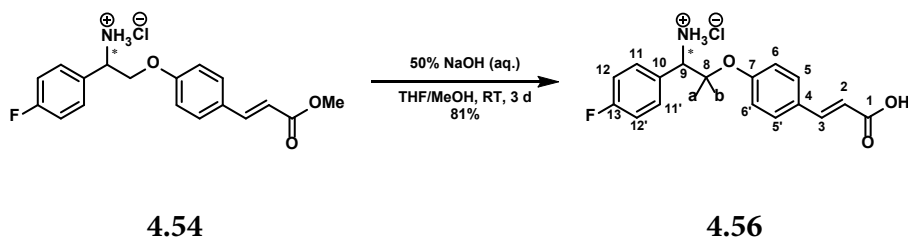


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.52	1.00	2.07	0.65	314.31		
NH ₄ OAc	12.5	25.9	2.00	77.08		
NaBH ₃ CN	3.73	7.72	0.49	62.84		
MeOH	10 mL/mmol					20

Eine Lösung von **4.52** (0.65 g, 2.07 mmol, 1.00 äq) in MeOH (20 mL) wurde mit vorgetrocknetem (80°C bei $3 \cdot 10^{-1}$ mbar für 5 h) NH₄OAc (2.00 g, 25.9 mmol, 12.5 äq) und NaBH₃CN (0.49 g, 7.72 mmol, 3.73 äq) versetzt und für 18 h unter rfx gerührt. Nach dem Erkalten wurde der Ansatz in H₂O (80 mL) aufgenommen, mit 4 M HCl (aq.) ein pH-Wert von < 2 eingestellt und die Lösung mit DCM (2 x 50 mL) gewaschen. Anschließend wurde der Ansatz mit festem K₂CO₃ versetzt, bis keine Gasentwicklung mehr beobachtet wurde, und daraufhin mit EtOAc (3 x 80 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit Brine gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde mit 1 M HCl (aq., 5 mL) versetzt und die entstandene Suspension mit DCM (2 x 10 mL) gewaschen. Der farblose Niederschlag wurde durch Filtration abgetrennt und im Vakuum getrocknet. Es wurden 0.38 g (1.21 mmol, 58%) des Produktes **4.54** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K);</p> <p>δ (ppm) = 8.96 (s, 3H, 9-NH₃⁺), 7.72 (dd, ³J = 8.9 Hz, ⁴J_{H,F} = 5.4 Hz, 2H, 11/11'-H), 7.69 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, 5/5'-H), 7.62 (d, ³J = 16.0 Hz, 1H, 3-H), 7.30 (dd, ³J_{H,F} = 8.9 Hz, ³J = 8.9 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.05 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H, 6/6'-H), 6.50 (d, ³J = 16.0 Hz, 1H, 2-H), 4.77 (dd, ³J_{cis} = 6.7 Hz, ³J_{trans} = 5.0 Hz, 1H, 9-H), 4.41 (dd, ²J = 10.3 Hz, ³J_{cis} = 7.2 Hz, 1H, 8-H_a), 4.37 (dd, ²J = 10.3 Hz, ³J_{trans} = 4.9 Hz, 1H, 8-H_b), 3.71 (s, 3H, 1-OMe).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K);</p> <p>δ (ppm) = 166.8 (C1), 162.3 (d, ¹J_{C,F} = 244.7 Hz, C13), 159.4 (C7), 144.1 (C3), 131.0 (d, ⁴J_{C,F} = 2.4 Hz, C10), 130.2 (d, ³J_{C,F} = 8.4 Hz, 2C, C11/11'), 130.0 (2C, C5/5'), 127.4 (C4), 115.6 (C2), 115.5 (d, ²J_{C,F} = 21.6 Hz, 2C, C12/12'), 115.2 (2C, C6/6'), 68.5 (C8), 52.4 (C9), 51.3 (-OMe).</p>
HR-MS:	<p>Für C₁₈H₁₈FNO₃H (M+H)⁺</p> <p>ber.: 316.1343</p> <p>gef.: 316.1352</p>
EA:	<p>Für C₁₈H₁₉ClFNO₃ x 0.25 H₂O ber./gef. (%)</p> <p>N: 3.93 / 3.86</p> <p>C: 60.68 / 60.72</p> <p>H: 5.52 / 5.49</p>
Smp.	218.3 °C

6.4.25 Verbindung 4.56

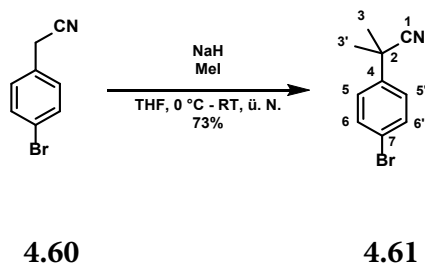


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.54	1.00	0.54	0.19	351.80		
50% NaOH (aq.)			0.2 mL/mmol			0.11
MeOH			3 mL/mmol			1.6
THF			6 mL/mmol			3.2

4.54 (0.19 g, 0.54 mmol, 1.00 äq) wurde in einer Mischung aus MeOH (1.6 mL) und THF (3.2 mL) gelöst, mit 50% NaOH (aq., 0.11 mL) versetzt und für 3 d bei RT gerührt. Im Anschluss wurde der Ansatz in EtOAc (20 mL) aufgenommen und das Rohprodukt an Silicagel adsorbiert. Nach Aufreinigung mittels MPLC (0-15% MeOH in DCM über 15 min, weitere 20 min. mit 15% MeOH) wurden 0.13 g (0.44 mmol, 81%) des Produktes als farbloser Feststoff erhalten. Das Produkt wurde durch Rühren in 4 M HCl (aq.) für 2 h und anschließendes Lyophilisieren in das entsprechende Hydrochlorid **4.56** überführt.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K);</p> <p>δ (ppm) = 12.12 (s(b), 1H, 1-OOH), 8.94 (s(b), 3H, 9-NH₃⁺), 7.71 (dd, ³J = 8.6 Hz, ⁴J_{H,F} = 5.3 Hz, 2H, 11/11'-H), 7.65 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, 5/5'-H), 7.54 (d, ³J = 16.0 Hz, 3-H), 7.31 (dd, ³J_{H,F} = 8.9 Hz, ³J = 8.9 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.05 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, 6/6'-H), 6.40 (d, ³J = 16.0 Hz, 2-H), 4.78 (dd, ³J_{cis} = 6.9 Hz, ³J_{trans} = 5.2 Hz, 1H, 9-H), 4.40 (dd, ²J = 10.5 Hz, ³J_{cis} = 7.3 Hz, 1H, 8-H_a), 4.36 (dd, ²J = 10.3 Hz, ³J_{trans} = 5.2 Hz, 1H, 8-H_b).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K);</p> <p>δ (ppm) = 167.6 (C1), 162.3 (d, ¹J_{C,F} = 245.9 Hz, C13), 159.2 (C7), 143.4 (C3), 131.0 (d, ⁴J_{C,F} = 3.6 Hz, C10), 130.2 (d, ³J_{C,F} = 8.4 Hz, 2C, C11/11'), 129.8 (2C, C5/5'), 127.6 (C4), 117.0 (C2), 115.5 (d, ²J_{C,F} = 21.6 Hz, 2C, C12/12'), 115.2 (2C, C6/6'), 68.6 (C8), 52.5 (C9).</p>
HR-MS:	<p>Für C₁₇H₁₇FNO₃H (M)⁺</p> <p>ber.: 302.1187</p> <p>gef.: 302.1183</p> <p>Für C₁₇H₁₆ClFNO₃ (M-H+Cl)⁻</p> <p>ber.: 336.0808</p> <p>gef.: 336.0813</p>
EA:	<p>Für C₁₇H₁₆FNO₃ x HCl x 0.5 H₂O ber./gef. (%)</p> <p>N: 4.04 / 3.90</p> <p>C: 58.88 / 58.74</p> <p>H: 5.23 / 5.13</p>
Smp.	Zersetzung bei > 270 °C

6.4.26 Verbindung 4.61

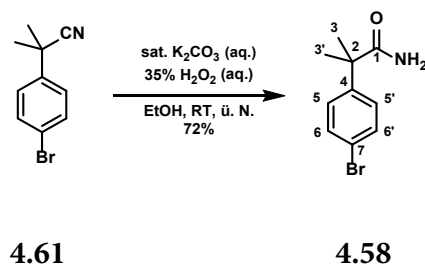


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.60	1.00	10.0	1.96	196.05		
NaH (60% in Mineralöl)	2.20	22.0	0.88	23.99		
Methyliodid	3.00	30.0	4.26	141.94	2.28	1.9
THF _{abs.}			1.6 mL/mmol			16

2-(4-Bromophenyl)-acetonitril (**4.60**, 1.96 g, 10.0 mmol, 1.00 äq) wurde in THF_{abs.} (16 mL) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Dem Ansatz wurde NaH (60% in Mineralöl, 0.88 g, 22.0 mmol, 2.20 äq) zugefügt und für 30 min bei 0 °C gerührt, anschließend wurde Methyliodid (1.9 mL, 30.0 mmol, 3.00 äq) zugegeben und die Reaktionslösung ü. N. bei RT gerührt. Am nächsten Tag wurde der Ansatz mit ges. NH₄Cl (aq., 100 mL) versetzt und die wässrige Phase mit DCM (3 x 100 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-5% EtOAc in CH über 30 min) gereinigt, dabei wurden 1.63 g (7.29 mmol, 73%) der Produktes **4.61** als farbloses Öl erhalten.

- ¹H-NMR:** (500 MHz, DMSO-d₆, 300 K);
 δ (ppm) = 7.62 (d, 3J = 7.7 Hz, 2H, 6/6'-H), 7.48 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, 5/5'-H), 1.67 (s, 6H, 3/3'-H₃).
- ¹³C-NMR:** (125 MHz, DMSO-d₆, 300 K);
 δ (ppm) = 140.9 (C4), 131.7 (2C, C6/6'), 127.3 (2C, C5/5'), 124.2 (C1), 120.9 (C7), 36.4 (C2), 28.1 (2C, C3/3').
- HR-MS (APCI):** Für C₁₀H₁₀BrNH (M+H)⁺
ber.: 224.0069 / 226.0049
gef.: 224.0076 / 226.0055
- EA:** Für C₁₀H₁₀BrN ber./gef. (%)
N: 6.25 / 6.71
C: 53.60 / 53.49
H: 4.50 / 4.57

6.4.27 Verbindung 4.58

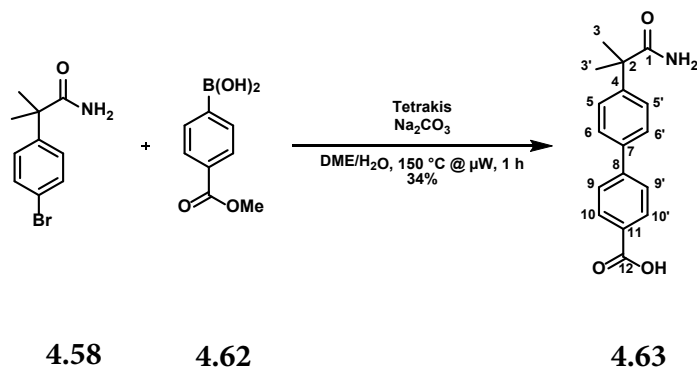


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.61	1.00	5.00	1.12	224.10		
sat. K ₂ CO ₃ (aq.)			2.3 mL/mmol			12
35% H ₂ O ₂ (aq.)			4.0 mL/mmol			20
EtOH			3.3 mL/mmol			17

4.61 (1.12 g, 5.00 mmol, 1.00 äq) wurde in EtOH (17 mL) gelöst, mit sat. K₂CO₃ (aq., 12 mL) und 35% H₂O₂ (aq., 20 mL) versetzt und ü. N. bei RT gerührt. Am nächsten Tag wurde der Ansatz in H₂O (150 mL) aufgenommen und mit DCM (3 x 100 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-30% EtOAc in CH über 30 min) gereinigt, wobei 0.88 g (3.62 mmol, 72%) des Produktes **4.58** als farbloser kristalliner Feststoff erhalten wurden.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * Aufspaltung durch <i>cis/trans</i> -Isomerie des Amids δ (ppm) = 7.50 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 6/6'-H), 7.28 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 5/5'-H), 6.90 (d, 1H, 1-NH ₂)*, 1.42 (s, 6H, 3/3'-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 177.3 (C1), 145.7 (C4), 130.8 (2C, C6/6'), 128.1 (2C, C5/5'), 119.2 (C7), 45.7 (C2), 26.5 (2C, C3/3').
HR-MS:	Für C ₁₀ H ₁₂ BrNONa (M+Na) ⁺ ber.: 263.9994 / 265.9975 gef.: 264.0005 / 265.9984
EA:	Für C ₁₀ H ₁₂ BrNO ber./gef. (%) N: 5.79 / 5.73 C: 49.61 / 49.60 H: 5.00 / 5.02
Smp.	139.3 °C

6.4.28 Verbindung 4.63



	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.58	1.00	0.83	0.20	242.12		
4.62	1.20	1.00	0.18	179.97		
Tetrakis	5 mol%	0.04	0.05	1155.5		
Na ₂ CO ₃	2.00	1.66	0.18	105.99		
DME/H ₂ O (2:1)			12 mL/mmol			10

4.58 (0.20 g, 0.83 mmol, 1.00 äq), 4-Methoxycarbonylboronsäure (**4.62**, 0.18 g, 1.00 mmol, 1.20 äq), Tetrakis (0.05 g, 0.04 mmol, 5 mol%) und Na₂CO₃ (0.18 g, 1.66 mmol, 2.00 äq) wurden in DME/H₂O (2:1, 10 mL) suspendiert und für 10 min mit Argon gespült. Anschließend wurde der Ansatz für 1 h bei 150°C/150 W in der Mikrowelle gerührt. Nach Abkühlen auf RT wurde der Ansatz in H₂O (10 mL) aufgenommen, mit sat. NH₄Cl (aq., 20 mL) versetzt und mit EtOAc (3 x 30 mL) gewaschen. Anschließend wurde die wässrige Phase für 24 h bei RT gelagert, wobei sich ein farbloser Niederschlag bildete. Dieser wurde abfiltriert, mit MeOH an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-15% MeOH in DCM über 15 min, 15% MeOH in DCM für 20 min) gereinigt. Dabei wurden 78 mg (0.28 mmol, 34%) des Produktes **4.63** als farblosen Feststoffs erhalten. Aufgrund der sehr schlechten Löslichkeit in DMSO konnte die Substanz nur unter starkem Erwärmen gelöst werden, wobei möglicherweise eine Decarboxylierung erfolgte (kein Carbonsäure-Kohlenstoff im ¹³C-NMR-Spektrum). Der Signalsatz im ¹H-NMR-Spektrum weist jedoch auf das Vorhandensein von zwei *para*-substituierten Aromaten hin. Die MS-Daten unterstützen die Hypothese, dass das längere Erwärmen bei der Probenvorbereitung für die ¹³C-NMR-Messung eine Decarboxylierung zur Folge hatte.

¹H-NMR: (500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); * = Signalaufspaltung durch *cis/trans*-Isomerie
δ (ppm) = 8.01 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, 10/10'-H), 7.76 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, 6/6'-H),
7.68 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, 9/9'-H), 7.45 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, 5/5'-H), 6.93 (d, 2H,
1-NH2)*, 1.47 (s, 6H, 3/3'-H3).

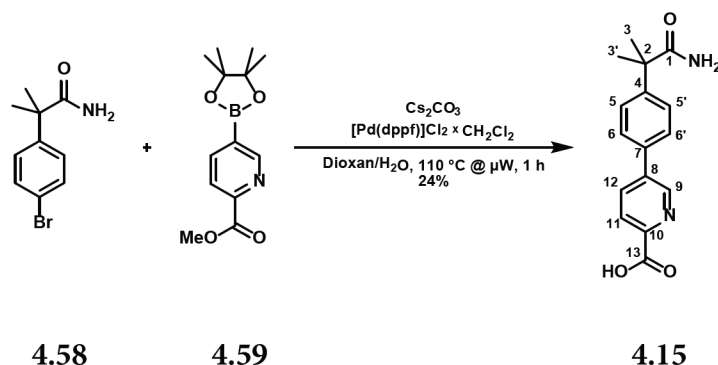
¹³C-NMR: (125 MHz, DMSO-d₆, 300 K);
δ (ppm) = 177.6 (C1), 146.4 (C_q arom.), 143.8 (C_q arom.), 136.9 (C_q arom.), 129.9 (2C,
C_{arom.}), 126.6 (2C, C_{arom.}), 126.5 (4C, C_{arom.}), 45.8 (C2), 26.7 (2C, C3/3').

HR-MS: Für C₁₇H₁₇NO₃Na (M+Na)⁺
ber.: 306.1101
gef.: 306.1107

Für C₁₇H₁₆NO₃ (M-H)⁻
ber.: 282.1136
gef.: 282.1146

6.4.29 Verbindung 4.15

□

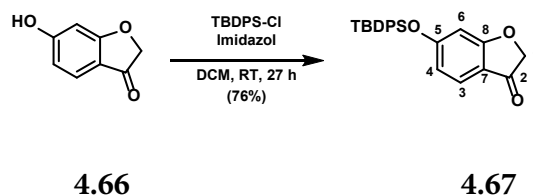


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.58	1.00	0.50	0.12	242.12		
4.59	1.20	0.60	0.16	263.10		
Cs ₂ CO ₃	2.00	1.00	0.33	325.82		
[Pd(dppf)]Cl ₂	10	0.05	0.04	816.65		
x CH ₂ Cl ₂	mol%					
Dioxan/H ₂ O (2:1)			6 mL/mmol			3

4.58 (0.12 g, 0.50 mmol, 1.00 äq), 5-Boronsäurepinacolestermethylpicolinat (**4.59**, 0.16 g, 0.60 mmol, 1.20 äq), Cs₂CO₃ (0.33 g, 1.00 mmol, 2.00 äq) und [Pd(dppf)]Cl₂ x CH₂Cl₂ (0.04 g, 0.05 mmol, 10 mol%) wurden in Dioxan/H₂O (2:1, 3 mL) suspendiert und das Reaktionsgemisch für 5 min mit Argon gespült. Anschließend wurde der Ansatz für 1 h in der Mikrowelle (110 °C, 300 W) gerührt und nach dem Abkühlen auf RT in MeOH (20 mL) aufgenommen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand mittels RP-MPLC (RP-18-Trennsäule (12 g), 10-50% MeOH in H₂O über 40 min) gereinigt, dabei wurden 33 mg (0.12 mmol, 24%) des Produktes **4.15** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); *Aufspaltung durch <i>cis/trans</i> -Isomerie des Amids δ (ppm) = 9.00 (d, ⁴ J = 1.7 Hz, 1H, 9-H), 8.23 (dd, ³ J = 8.3 Hz, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 12-H), 8.10 (dd, ³ J = 8.2 Hz, ⁵ J = 0.7 Hz, 1H, 11-H), 7.76 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 5/5'-H), 7.50 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 6/6'-H), 6.93 (d, 2H, 1-NH ₂)*, 1.48 (s, 6H, 3/3'-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 177.5 (C1), 166.1 (C13), 147.3 (C9), 147.1 (C10), 137.9 (C8), 134.8 (C12), 133.9 (C7), 126.9 (2C, C5/5'), 126.7 (2C, C6/6'), 124.7 (C11), 45.9 (C2), 26.6 (C3/3').
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₁₅ N ₂ O ₃ (M-H) ⁻ ber.: 283.1088 gef.: 283.1097
EA:	Für C ₁₆ H ₁₆ N ₂ O ₃ x 0.75 H ₂ O ber./gef. (%) N: 9.41 / 9.73 C: 64.53 / 64.79 H: 5.92 / 5.53
Smp.	Zersetzung > 220 °C

6.4.30 Verbindung 4.67

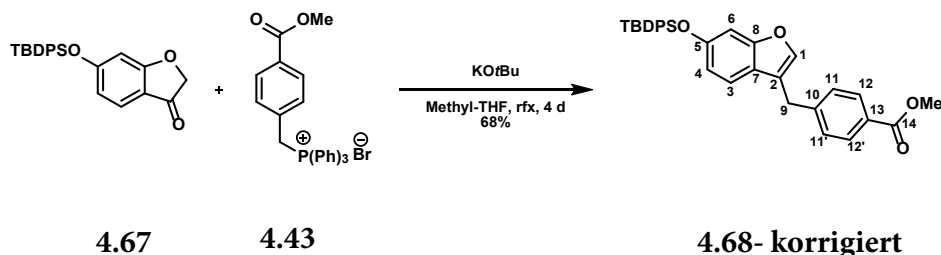


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
6-Hydroxy-2,3-dihydrobenzofuran-3-on	1.00	6.66	1.00	150.12		
TBDPS-Cl	1.00	6.66	1.83	274.86	1.06	1.7
Imidazol	1.00	6.66	0.45	68.08		
DCM			4.8 mL/mmol			32

Eine Lösung von 6-Hydroxy-2,3-dihydrobenzofuran-3-on (**4.66**, 1.00 g, 6.66 mmol, 1.00 äq) und TBDPS-Cl (1.7 mL, 6.66 mmol, 1.00 äq) in DCM (32 mL) wurde mit Imidazol (0.45 g, 6.66 mmol, 1.00 äq) versetzt und 27 h bei RT gerührt. Anschließend wurde der Ansatz mit Brine (100 mL) versetzt und mit DCM (3 x 100 mL) extrahiert, die vereinigte organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-15% EtOAc in CH über 40 min) gereinigt, dabei wurden 2.29 g des noch leicht mit TBDPS-Cl verunreinigten Produktes **4.67** (Verhältnis von Produkt zu Verunreinigung laut $^1\text{H-NMR}$ 1 : 4.4, tatsächlicher Produktanteil 1.97 g, korrigierte Ausbeute ca. 76%) als gelbes Öl erhalten. Dieses wurde ohne weitere Aufreinigung im nächsten Schritt umgesetzt.

¹H-NMR:	(500 MHz, CDCl ₃ , 300 K); δ (ppm) = 7.74 - 7.66 (m, 4H, H _{arom. TBDPS}), 7.49 - 7.35 (m, 7H, 6 H _{arom. TBDPS} + 3-H), 6.54 (dd, ³ J = 8.6 Hz, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 4-H), 6.39 (d, ⁴ J = 1.7 Hz, 1H, 6-H), 4.53 (s, 2H, 1-H ₂), 1.11 (s, 9H, tBu _{TBDPS}).
¹³C-NMR:	(125 MHz, CDCl ₃ , 300 K); δ (ppm) = 198.0 (C2), 175.9 (C8), 164.7 (C5), 135.5 (4C, C _{arom. TBDPS}), 134.9 (Verunreinigung TBDPS-Cl), 131.7 (2C, C _{q arom. TBDPS}), 130.5 (2C, C _{arom. TBDPS}), 129.7 (Verunreinigung TBDPS-Cl), 128.2 (4C, C _{arom. TBDPS}), 127.8 (Verunreinigung TBDPS-Cl), 125.1 (C3), 116.0 (C4), 115.1 (C7), 103.8 (C6), 75.4 (C1), 26.7 (Verunreinigung TBDPS-Cl), 26.5 (3C, tBu _{TBDPS}), 19.6 (C _{q tBu TBDPS}), 19.1 (Verunreinigung TBDPS-Cl).
HR-MS:	Für C ₂₄ H ₂₄ O ₃ SiNa (M+Na) ⁺ ber.: 411.1398 gef.: 411.1397

6.4.31 Verbindung 4.68 - korrigiert

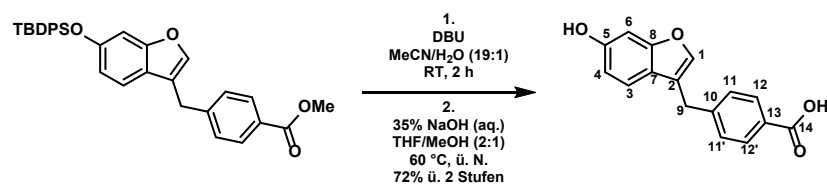


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
4.67	1.00	5.15	2.00	388.54		
4.43	1.50	7.72	3.79	491.36		
KOtBu	1.50	7.72	0.87	112.21		
2-Methyl-THF		2.5 mL/mmol + 2.0 mL/mmol				13 + 10

In einem ausgeheizten Kolben wurde unter Argon **4.43** (3.79 g, 7.72 mmol, 1.50 äq) in 2-Methyl-THF (13 mL) suspendiert und im Argon-Gegenstrom KOtBu (0.87 g, 7.72 mmol, 1.50 äq) zugegeben. Der Kolben wurde 5 min evakuiert und dann für 1.5 h bei 60 °C unter Argon gerührt. Anschließend wurde eine Lösung von **4.67** (2.00 g, 5.15 mmol, 1.00 äq) in 2-Methyl-THF (10 mL) zugegeben, nochmals für 5 min evakuiert und für 4 d bei rfx gerührt. Nach dieser Zeit wurde der Ansatz mit Brine (30 mL) und H₂O (30 mL) versetzt und mit EtOAc (3 x 100 mL) extrahiert, die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-15% EtOAc in CH über 40 min) aufgereinigt, dabei wurden 1.82 g (3.49 mmol, 68%) des Produktes **4.68** (hier dargestellt mit korrigierter Lage der DB) als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, CDCl ₃ , 300 K); δ (ppm) = 7.95 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.73 (sm, 4H, H _{arom. TBDPS}), 7.42 (dddd, ³ J = 7.3 Hz, ⁴ J = 1.8 Hz, 2H, H _{arom. TBDPS}), 7.38 - 7.35 (m, 4H, H _{arom. TBDPS}), 7.31 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 11/11'-H), 7.22 (dd, ⁴ J = 1.0 Hz, 1H, 1-H), 7.04 (d, ³ J = 8.6 Hz, 1H, 3-H), 6.85 (d, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 6-H), 6.69 (dd, ³ J = 8.5 Hz, ⁴ J = 2.1 Hz, 1H, 4-H), 3.97 (s, 2H, 9-H ₂), 3.90 (s, 3H, 14-OMe), 1.11 (s, 9H, <i>t</i> Bu TBDPS).
¹³C-NMR:	(125 MHz, CDCl ₃ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 167.1 (C14), 156.2 (C5/8)*, 153.8 (C5/8)*, 144.8 (C10), 141.5 (C1), 135.7 (4C, C _{arom. TBDPS}), 132.9 (2C, C _{q arom. TBDPS}), 130.1 (2C, C _{arom. TBDPS}), 130.0 (2C, C12/12'), 128.8 (2C, C11/11'), 128.5 (C13), 127.9 (4C, C _{arom. TBDPS}), 121.6 (C2/C7)*, 119.5 (C3), 118.8 (C2/C7)*, 115.9 (C4), 102.9 (C6), 52.2 (14-OMe), 30.2 (C9), 26.7 (CH ₃ <i>t</i> Bu TBDPS), 19.6 (C _q <i>t</i> Bu TBDPS).
HR-MS:	Für C ₃₃ H ₃₂ O ₄ SiNa (M+Na) ⁺ ber.: 543.1962 gef.: 543.1958
EA	Für C ₃₃ H ₃₂ O ₄ Si ber./gef. (%) N: 0.00 / 0.00 C: 76.12 / 75.97 H: 6.19 / 6.15
Smp.	146.5 °C

6.4.32 Verbindung 4.70



4.68 - korrigiert

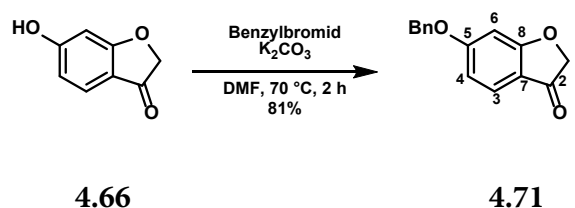
4.70

	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.68 - korrigiert	1.00	2.00	1.04	520.70		
DBU	2.00	4.00	0.61	152.24	1.02	0.60
MeCN/H ₂ O (19:1)			4 mL/mmol			8
35% NaOH (aq.)			1.8 mL/mmol			3.6
THF/MeOH (2:1)			15 mL/mmol			30

Eine Suspension von **4.68 - korrigiert** (1.04 g, 2.00 mmol, 1.00 äq) in MeCN/H₂O (19:1, 8 mL) wurde mit DBU (0.60 mL, 4.00 mmol, 2.00 äq) versetzt und für 2 h bei RT gerührt. Anschließend wurde der Ansatz mit sat. NH₄Cl (aq., 20 mL) versetzt, mit 4 M HCl (aq.) ein pH < 1 eingestellt und mit Et₂O (3 x 100 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in THF/MeOH (2:1, 30 mL) gelöst und nach Zugabe von 35% NaOH (aq., 3.6 mL) ü. N. bei 60 °C gerührt. Am nächsten Tag wurde die Reaktionslösung im Vakuum bis zur Trockne eingeeengt, der Rückstand in 4 M HCl (aq., 40 mL) aufgenommen und mit Et₂O (3 x 100 mL) extrahiert, die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (20-50% [1% MeOH in Et₂O + HCOOH] in CH über 40 min) aufgereinigt, dabei wurden 0.39 g (1.44 mmol, 72% ü. 2 Stufen) des Produktes **4.70** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 12.79 (s, 1H, 14-OOH), 9.46 (s, 1H, 5-OH), 7.87 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.63 (s, 1H, 1-H), 7.42 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 11/11'-H), 7.20 (d, ³ J = 8.6 Hz, 1H, 3-H), 6.87 (d, ⁴ J = 1.7 Hz, 1H, 6-H), 6.68 (dd, ³ J = 8.3 Hz, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 4-H), 4.02 (s, 2H, 9-H ₂).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 167.2 (C14), 156.0 (C5/8)*, 155.6 (C5/8)*, 145.0 (C10), 140.9 (C1), 129.4 (2C, C12/12'), 128.7 (C13), 128.6 (2C, C11/11'), 119.9 (C3), 119.5 (C2/7)*, 118.6 (C2/7)*, 111.8 (C4), 97.7 (C6), 29.0 (C9).
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₁₁ O ₄ (M-H) ⁻ ber.: 267.0663 gef.: 267.0674
qNMR	Die Reinheit wurde per qNMR auf 96,8% bestimmt. Standard: Maleinsäure.
Smp.	220.6 °C

6.4.33 Verbindung 4.71

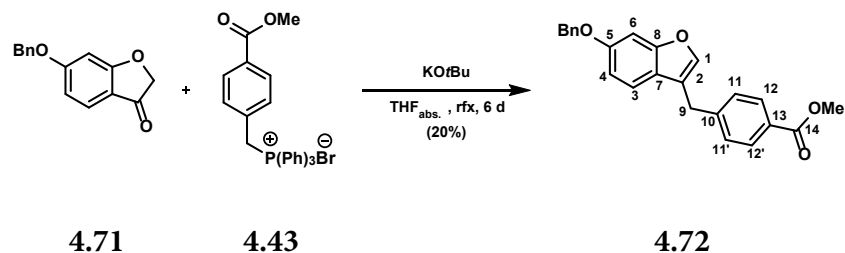


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
6-Hydroxy-benzofuran-3-(2H)-on	1.00	5.00	0.75	150.13		
Benzylbromid	1.50	7.50	1.28	171.04	1.44	0.89
K ₂ CO ₃	3.00	15.0	2.07	138.20		
DMF			5.0 mL/mmol			25

Zu einer Suspension von 6-Hydroxy-benzofuran-3-(2H)-on (**4.66**, 0.75 g, 5.00 mmol, 1.00 äq) und K₂CO₃ (2.07 g, 15.0 mmol, 3.00 äq) in DMF (25 mL) wurde bei RT Benzylbromid (0.89 mL, 7.50 mmol, 1.50 äq) zugetropft und der Ansatz anschließend für 2 h bei 70 °C gerührt. Nach Ablauf der Zeit wurde der Ansatz in H₂O (200 mL) aufgenommen und mit EtOAc (3 x 200 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit 5% LiCl (aq., 3 x 100 mL) und Brine (100 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Aufreinigung mittels MPLC (0-20% EtOAc in CH über 40 min) wurden 0.97 g (4.05 mmol, 81%) des Produktes **4.71** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 7.53 (d, ³ J = 8.6 Hz, 1H, 3-H), 7.48 - 7.34 (m, 5H, H _{arom. Bn}), 6.90 (d, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 6-H), 6.77 (dd, ³ J = 8.6 Hz, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 4-H), 5.23 (s, 2H, Ph-CH ₂ Bn), 4.76 (s, 2H, 1-H ₂).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 197.0 (C2), 175.6 (C8), 166.6 (C5), 136.0 (C _q Bn), 128.5 (2C, C _{arom. Bn}), 128.1 (C _{arom. Bn}), 127.8 (2C, C _{arom. Bn}), 124.6 (C3), 114.1 (C7), 111.9 (C6), 97.7 (C4), 75.4 (C1), 70.1 (Ph-CH ₂ Bn).
HR-MS:	Für C ₁₅ H ₁₂ O ₃ H (M+H) ⁺ ber.: 241.0859 gef.: 241.0857
EA:	Für C ₁₅ H ₁₂ O ₃ ber./gef. (%) N: 0.00 / 0.00 C: 74.99 / 74.95 H: 5.03 / 5.11
Smp.	100.5 °C

6.4.34 Verbindung 4.72



	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.71	1.00	3.00	0.72	240.26		
4.43	1.20	3.60	1.77	491.36		
KOtBu	1.20	3.60	0.40	112.21		
THF _{abs.}			4.7 mL/mmol			14

Eine Suspension des Wittig-Salz **4.43** (1.77 g, 3.60 mmol, 1.20 äq) in THF_{abs.} (7.5 mL) wurde unter Argon-Atm. mit KOtBu (0.40 g, 3.60 mmol, 1.20 äq) versetzt und für 1 h bei RT gerührt. Dann wurde bei 0 °C eine Lösung von **4.71** (0.72 g, 3.00 mmol, 1.00 äq) in THF_{abs.} (6.5 mL) zugetropft und das Reaktionsgemisch bei Argon-Atm. für 6 d unter rfx gerührt. Nach dem Abkühlen wurde der Ansatz mit H₂O (75 mL) versetzt und mit EtOAc (3 x 100 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit Brine gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-15% EtOAc in CH über 40 min) gereinigt, dabei wurden 0.22 g (0.59 mmol, 20%) des leicht verunreinigten Produktes **4.72** als gelber Feststoff erhalten. Dieses wurde ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt umgesetzt.

¹H-NMR: (250 MHz, CDCl₃, 300 K); Signale der Verunreinigung konnten als solche identifiziert, aber nicht eindeutig zugeordnet werden.

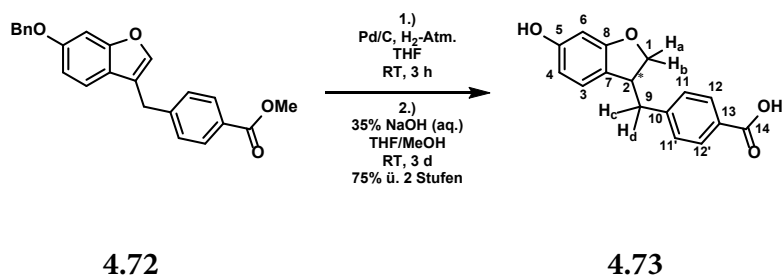
δ (ppm) = 8.05 (d, 3J = 8.2 Hz, H_{Verunreinigung}), 7.97 (d, 3J = 8.1 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.59 (d, 3J = 8.2 Hz, H_{Verunreinigung}), 7.46 - 7.29 (m, 8H, H_{arom. Bn} + 11/11'-H + 1-H), 7.20 (d, 3J = 8.5 Hz, 1H, 3-H), 7.07 (d, 4J = 2.1 Hz, 1H, 6-H), 6.89 (dd, 3J = 8.5 Hz, 4J = 2.1 Hz, 1H, 4-H), 5.09 (s, 2H, Ph-CH₂ Bn), 4.04 (s, 2H, 9-H₂), 3.93 (s, H_{Verunreinigung}), 3.90 (s, 3H, 14-OMe).

HR-MS: Für C₂₄H₂₀O₄H (M+H)⁺

ber.: 373.1434

gef.: 373.1437

6.4.35 Verbindung 4.73

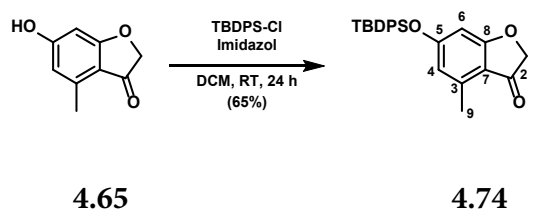


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.72	1.00	0.40	0.15	372.42		
Pd/C (10% Pd)	0.10	0.04	0.04	106.42		
THF			10 mL/mmol			4
35% NaOH (aq.)			1 mL/mmol			0.4
MeOH			5 mL/mmol			2
THF			10 mL/mmol			4

4.72 (0.15 g, 0.40 mmol, 1.00 äq) wurde in THF (4 mL) gelöst, mit Pd/C (10% Pd, 0.04 g, 0.04 mmol, 0.10 äq) versetzt und unter H₂-Atmosphäre für 3 h gerührt. Anschließend wurde der Ansatz über Celite filtriert, mit MeOH (10 mL) nachgespült und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in THF/MeOH (2:1, 6 mL) gelöst, mit 35% NaOH (aq., 0.4 mL) versetzt und für 3 d bei RT gerührt. Im Anschluss wurde der Ansatz in H₂O (20 mL) aufgenommen, mit 4 M HCl (aq.) der pH auf ca. 1 eingestellt und mit EtOAc (3 x 30 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit Brine (10 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-15% MeOH in DCM über 30 min) gereinigt, dabei wurden 81 mg (0.30 mmol, 75% ü. 2 Stufen) des Produktes **4.73** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 12.79 (s(b), 1H, 14-OOH), 9.23 (s(b), 1H, 5-OH), 7.87 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.34 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 11/11'-H), 6.74 (dd, ³ J = 8.0 Hz, ⁵ J = 0.9 Hz, 1H, 3-H), 6.20 (dd, ³ J = 8.0 Hz, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 4-H), 6.15 (d, ⁴ J = 2.3 Hz, 1H, 6-H), 4.47 (dd, ² J = 8.9 Hz, ³ J = 8.9 Hz, 1H, 1-H _a), 4.18 (dd, ² J = 8.9 Hz, ³ J = 6.0 Hz, 1H, 1-H _b), 3.69 (sm, 1H, 2-H), 3.01 (dd, ² J = 13.8 Hz, ³ J = 6.3 Hz, 1H, 9-H _c), 2.84 (dd, ² J = 13.8 Hz, ³ J = 8.3 Hz, 1H, 9-H _d).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 167.2 (C14), 160.7 (C8), 157.9 (C5), 144.7 (C10), 129.3 (2C, C11/11' / C12/12')*, 129.1 (2C, C11/11' / C12/12')*, 128.8 (C13), 124.5 (C3), 120.3 (C7), 107.0 (C4), 97.0 (C6), 76.2 (C1), 41.6 (C2), 40.3 (C9).
HR-MS (APCI):	Für C ₁₆ H ₁₃ O ₄ (M-H) ⁻ ber.: 269.0819 gef.: 269.0828
EA:	Für C ₁₆ H ₁₄ O ₄ ber./gef. (%) N: 0.00 / 0.21 C: 71.10 / 71.36 H: 5.22 / 5.33
Smp.	221.6 °C

6.4.36 Verbindung 4.74

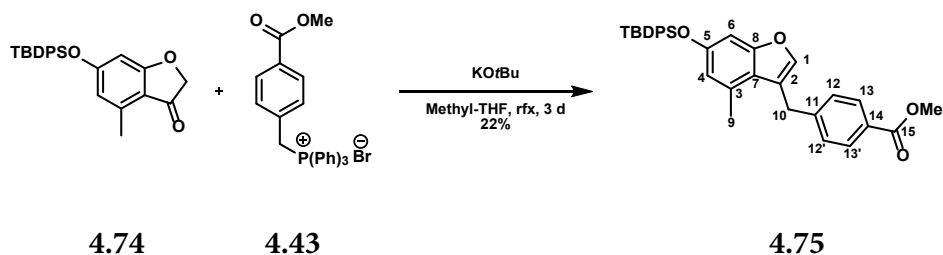


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
4.65	1.00	3.05	0.50	164.16		
TBDPS-Cl	1.00	3.05	0.83	274.86	1.06	0.79
Imidazol	1.00	3.05	0.21	68.08		
DCM			4.8			15

Eine Lösung von 6-Hydroxy-4-methyl-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-on (**4.65**, 0.50 g, 3.05 mmol, 1.00 äq) in DCM (15 mL) wurde mit TBDPS-Cl (0.79 mL, 3.05 mmol, 1.00 äq) und Imidazol (0.21 g, 3.05 mmol, 1.00 äq) versetzt und für 24 h bei RT gerührt. Anschließend wurde der Ansatz mit Brine (60 mL) versetzt und mit DCM (3 x 60 mL) extrahiert, die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-10% EtOAc in CH über 30 min) gereinigt, dabei wurden 0.88 g des noch leicht mit TBDPS-Cl verunreinigten Produktes **4.74** als farbloses Öl erhalten (Verhältnis von Produkt zu Verunreinigung laut ¹H-NMR-Spektrum 1/6.4, tatsächlicher Produktanteil 0.80 g, korrigierte Ausbeute ca. 65%). Dieses wurde ohne weitere Aufreinigung im nächsten Schritt umgesetzt.

¹H-NMR:	(500 MHz, CDCl ₃ , 300 K); δ (ppm) = 7.74 - 7.67 (m, 4H, H _{arom.} TBDPS), 7.48 - 7.35 (m, 6H, H _{arom.} TBDPS), 6.33 (sm, 1H, 4-H), 6.15 (d, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 6-H), 4.48 (s, 2H, 1-H ₂), 2.44 (s, 3H, 9-H ₃), 1.10 (s, 9H, <i>t</i> Bu TBDPS).
¹³C-NMR:	(125 MHz, CDCl ₃ , 300 K); * = Signal sehr schwach δ (ppm) = 198.6 (C2), 176.2 (C8), 164.0 (C5), 140.7 (C3), 135.5 (4C, C _{arom.} TBDPS), 134.9 (Verunreinigung TBDPS-Cl), 131.9 (2C, C _q arom. TBDPS), 130.4 (2C, C _{arom.} TBDPS), 129.8 (Verunreinigung TBDPS-Cl), 128.1 (4C, C _{arom.} TBDPS), 127.9 (Verunreinigung TBDPS-Cl), 116.8 (C4), 113.5 (C7), 101.2 (C6), 75.4 (C1), 27.0 (C _q <i>t</i> Bu TBDPS), 26.7 (Verunreinigung TBDPS-Cl), 26.5 (CH ₃ <i>t</i> Bu TBDPS), 18.0 (C9)*.
HR-MS:	Für C ₂₅ H ₂₆ O ₃ SiH (M+H) ⁺ ber.: 403.1724 gef.: 403.1719

6.4.37 Verbindung 4.75

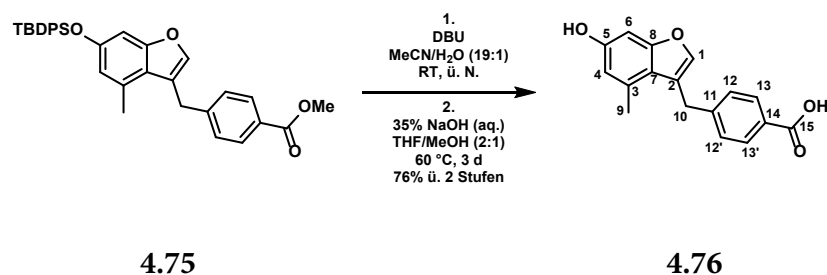


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.74	1.00	2.17	0.88	402.57		
4.43	1.50	3.26	1.60	491.36		
KOtBu	1.50	3.26	0.37	112.21		
Methyl-THF		2.5 mL/mmol + 2.0 mL/mmol				5.4 + 4.3

Wittig-Salz **4.43** (1.60 g, 3.26 mmol, 1.50 äq) wurde unter Argon-Atmosphäre in Methyl-THF (5.4 mL) suspendiert, mit KOtBu (0.37 g, 3.26 mmol, 1.50 äq) versetzt und für 1.5 h bei 60 °C gerührt. Anschließend wurde eine Lösung von **4.74** (0.88 g, 2.17 mmol, 1.00 äq) in Methyl-THF (4.3 mL) zugetropft und für 3 d unter rfx gerührt. Nach dem Abkühlen auf RT wurde der Ansatz mit H₂O (20 mL) und Brine (20 mL) versetzt und mit EtOAc (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit Brine (50 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert und zunächst mittels MPLC (0-10% EtOAc in CH über 39 min) und anschließendes Waschen des erhaltenen Rohproduktes mit MeOH gereinigt. Dabei wurden 0.25 g (0.47 mmol, 22%) des Produktes **4.75** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, CDCl ₃ , 300 K); δ (ppm) = 7.96 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 13/13'-H), 7.78 - 7.69 (m, 4H, H _{arom.} TBDPS), 7.46 - 7.32 (m, 6H, H _{arom.} TBDPS), 7.26 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.07 (t, ⁴ J = 1.2 Hz, H, 1-H), 6.62 (sm, 1H, 4-H), 6.53 (sm, 1H, 6-H), 4.11 (s, 2H, 10-H ₂), 3.90 (s, 3H, 15-OMe), 2.23 (s, 3H, 9-H ₃), 1.10 (s, 9H, <i>t</i> Bu TBDPS).
¹³C-NMR:	(125 MHz, CDCl ₃ , 300 K); * = genaue Zuordnung nicht möglich; Signal für C _q <i>t</i> Bu TBDPS fehlt. δ (ppm) = 167.2 (C15), 156.7 (C5/C8)*, 153.5 (C5/C8)*, 145.5 (C2), 142.1 (C1), 135.7 (4C, C _{arom.} TBDPS), 133.0 (2C, C _q arom. TBDPS), 131.7 (C3), 130.0 (2C, C _{arom.} TBDPS), 130.0 (2C, C13/13'), 128.6 (2C, C12/12'), 128.4 (C14), 127.9 (4C, C _{arom.} TBDPS), 120.2 (C7), 119.0 (C11), 117.6 (C4), 100.4 (C6), 52.2 (-OMe), 31.4 (C10), 26.7 (CH ₃ <i>t</i> Bu TBDPS), 19.4 (C9).
HR-MS:	Für C ₃₄ H ₃₄ O ₄ SiNa (M+Na) ⁺ ber.: 557.2119 gef.: 557.2122
EA:	Für C ₃₄ H ₃₄ O ₄ Si ber./gef. (%) N: 0.00 / 0.00 C: 76.37 / 76.17 H: 6.41 / 6.42
Smp.	95.8 °C

6.4.38 Verbindung 4.76

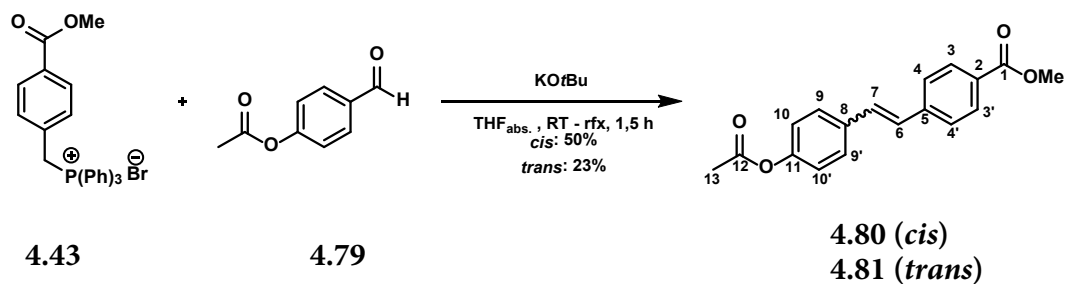


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.75	1.00	0.37	0.20	534.73		
DBU	3.00	1.11	0.17	152.24	1.02	0.17
MeCN/H ₂ O (19:1)			4 mL/mmol			1.5
35% NaOH (aq.)			1.8 mL/mmol			0.7
THF/MeOH (2:1)			15 mL/mmol			5.6

Eine Suspension von **4.75** (0.20 g, 0.37 mmol, 1.00 äq) in MeCN/H₂O (19:1, 1.5 mL) wurde mit DBU (0.17 mL, 1.11 mmol, 3.00 äq) versetzt und ü. N. bei RT gerührt. Anschließend wurde der Ansatz mit sat. NH₄Cl (aq., 10 mL) versetzt, mit 4 M HCl (aq.) ein pH < 1 eingestellt und mit Et₂O (3 x 15 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in THF/MeOH (2:1, 5.6 mL) gelöst und nach Zugabe von 35% NaOH (aq., 0.7 mL) für 3 d bei 60 °C gerührt. Danach wurde die Reaktionslösung im Vakuum bis zur Trockne eingeeengt, der Rückstand in 4 M HCl (aq., 20 mL) aufgenommen und mit Et₂O (3 x 20 mL) extrahiert, die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (20-50% [1% MeOH in Et₂O + HCOOH] in CH über 30 min) aufgereinigt, dabei wurden 78 mg (0.28 mmol, 76% ü. 2 Stufen) des Produktes **4.76** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 12.79 (s, 1H, 15-OOH), 9.36 (s, 1 H, 5-OH), 7.88 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 13/13'-H), 7.48 (s, 1H, 1-H), 7.31 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 12/12'-H), 6.70 (sm, 1H, 4-H), 6.44 (sm, 1H, 6-H), 4.16 (s, 2H, 10-H ₂), 2.22 (s, 3H, 9-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = genaue Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 167.2 (C15), 156.6 (C5/C8)*, 155.3 (C5/C8)*, 145.6 (C2), 141.6 (C1), 131.4 (C3), 129.5 (2C, C13/13'), 128.7 (C14), 128.3 (2C, C12/12'), 118.6 (C11), 118.1 (C7), 113.3 (C4), 95.4 (C6), 30.0 (C10), 18.9 (C9).
HR-MS:	Für C ₁₇ H ₁₃ O ₄ (M-H) ⁻ ber.: 281.0819 gef.: 281.0821
EA:	Für C ₁₇ H ₁₄ O ₄ ber./gef. (%) N: 0.00 / 0.00 C: 72.33 / 72.58 H: 5.00 / 5.17
Smp.	217.8 °C

6.4.39 Verbindungen 4.80 und 4.81



	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4-Acetoxy-benzaldehyd	1.00	2.00	0.33	164.16	1.17	0.28
4.43	1.50	3.00	1.47	491.36		
KOtBu	1.50	3.00	0.34	112.21		
$\text{THF}_{\text{abs.}}$		2.5 mL/mmol + 2.0 mL/mmol				5 + 4

In einem ausgeheizten Kolben wurde unter Argon-Atmosphäre **4.43** (1.47 g, 3.00 mmol, 1.50 äq) in $\text{THF}_{\text{abs.}}$ (5 mL) suspendiert und im Gegenstrom mit KOtBu (0.34 g, 3.00 mmol, 1.50 äq) versetzt. Der Ansatz wurde für 30 min bei RT gerührt, dann wurde bei 0 °C eine Lösung von 4-Acetoxybenzaldehyd (**4.79**, 0.28 mL, 2.00 mmol, 1.00 äq) in $\text{THF}_{\text{abs.}}$ (4 mL) zugetropft und anschließend unter rfx gerührt. Nach 1 h wurde der Ansatz mit Brine (20 mL) versetzt und mit EtOAc extrahiert (3 x 40 mL), die vereinigte organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-25% EtOAc in CH über 45 min) gereinigt, dabei wurden 0.30 g (1.00 mmol, 50%) des *cis*-Produktes **4.80** und 0.14 g (0.46 mmol, 23%) des *trans*-Produktes **4.81** als farblose Feststoffe erhalten.

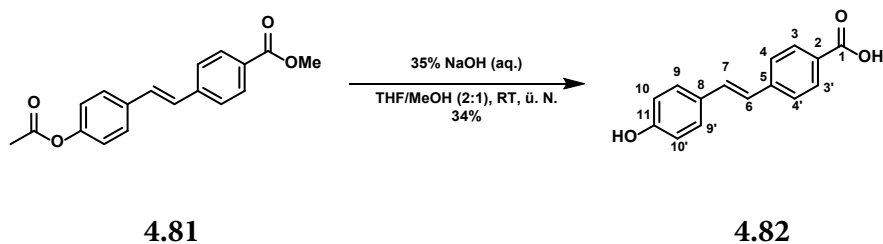
cis-Produkt (4.80)

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 7.85 (d, 3J = 8.3 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.36 (d, 3J = 8.0 Hz, 2H, 4/4'-H), 7.23 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, 9/9'-H), 7.03 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, 10/10'-H), 6.76 (d, $^3J_{\text{cis}}$ = 12.3 Hz, 1H, 7-H), 6.71 (d, $^3J_{\text{cis}}$ = 12.3 Hz, 1H, 6-H), 3.83 (s, 3H, 1-OMe), 2.25 (s, 3H, 13-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 169.0 (C12), 165.8 (C1), 149.7 (C11), 141.8 (C5), 133.7 (C8), 131.1 (C7), 129.6 (2C, C3/3'), 129.2 (2C, C9/9'), 129.1 (C6), 128.7 (2C, C4/4'), 128.2 (C2), 121.8 (2C, C10/10'), 52.0 (-OMe), 20.8 (C13).
HR-MS:	Für C ₁₈ H ₁₆ O ₄ Na (M+Na) ⁺ ber.: 319.0941 gef.: 319.0940
Smp.	77.0 °C
DC:	R _f = 0.54 (CH/EtOAc 3:1)

trans-Produkt (4.81)

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 7.96 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.73 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, 4/4'-H / 9/9'-H)*, 7.68 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, 4/4'-H / 9/9'-H)*, 7.43 (d, $^3J_{\text{trans}}$ = 16.6 Hz, 1H, 7-H), 7.31 (d, $^3J_{\text{trans}}$ = 16.3 Hz, 1H, 6-H), 7.17 (d, 3J = 8.6 Hz, 2H, 10/10'-H), 3.86 (s, 3H, 1-OMe), 2.28 (s, 3H, 13-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 169.1 (C12), 165.9 (C1), 150.3 (C11), 141.7 (C5), 134.2 (C8), 130.3 (C7), 129.6 (2C, C3/3'), 128.2 (C2), 127.8 (2C, C4/4' / C9/9')*, 127.3 (C6), 126.6 (2C, C4/4' / C9/9')*, 122.1 (2C, C10/10'), 52.0 (-OMe), 20.8 (C13).
HR-MS:	Für C ₁₈ H ₁₆ O ₄ Na (M+Na) ⁺ ber.: 319.0941 gef.: 319.0943
Smp.	169.5 °C
DC:	R _f = 0.43 (CH/EtOAc 3:1)

6.4.40 Verbindung 4.82

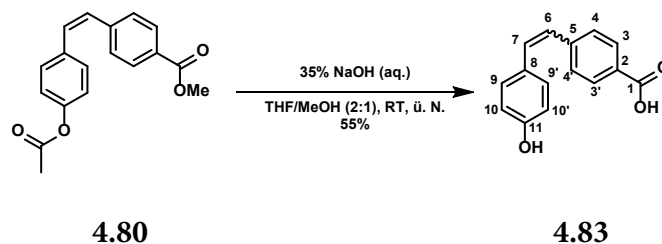


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.81	1.00	1.45	0.43	296.32		
35% NaOH (aq.)			1 mL/mmol			1.4
THF/MeOH (2:1)			15 mL/mmol			22

Eine Suspension von **4.81** (0.43 g, 1.45 mmol, 1.00 äq) in THF/MeOH (2:1, 22 mL) wurde mit 35% NaOH (aq., 1.4 mL) versetzt und ü. N. bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 1 M HCl (aq., 15 mL) aufgenommen und mit Et₂O (3 x 25 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit Brine (20 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und mittels MPLC (0-10% MeOH in DCM über 30 min) gereinigt, dabei wurden 0.15 g (0.49 mmol, 34%) des Produktes **4.82** als leicht gelblicher Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 12.78 (s, 1H, 1-OOH), 9.65 (s, 1H, 11-OH), 7.91 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.64 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 9/9'-H), 7.47 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 4/4'-H), 7.29 (d, ³ J _{trans} = 16.3 Hz, 1H, 7-H), 7.08 (d, ³ J _{trans} = 16.3 Hz, 1H, 6-H), 6.79 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 10/10'-H).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 167.1 (C1), 157.8 (C11), 142.0 (C5), 131.0 (C7), 129.7 (2C, C3/3'), 128.8 (C2), 128.3 (2C, C9/9'), 127.7 (C8), 125.9 (2C, C4/4'), 124.0 (C6), 115.6 (2C, C10/10').
HR-MS:	Für C ₁₅ H ₁₁ O ₃ (M-H) ⁻ ber.: 239.0714 gef.: 239.0714
EA:	Für C ₁₅ H ₁₂ O ₃ x 0.25 H ₂ O ber./gef. (%) N: 0.00 / 0.00 C: 73.61 / 73.53 H: 5.15 / 5.43
Smp.	285.9 °C

6.4.41 Verbindung 4.83

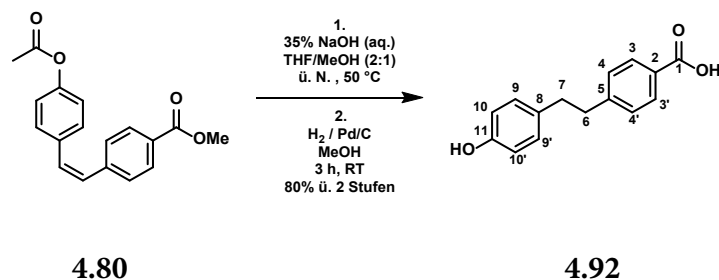


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.80	1.00	0.40	0.12	296.32		
35% NaOH (aq.)			1 mL/mmol			0.4
THF/MeOH (2:1)			15 mL/mmol			6

Eine Lösung von **4.80** (0.12 g, 0.40 mmol, 1.00 äq) in THF/MeOH (2:1, 6 mL) wurde mit 35% NaOH (aq., 0.4 mL) versetzt und ü. N. bei RT gerührt. Am nächsten Tag wurde der Ansatz mit 4 M HCl (aq., 15 mL) versetzt und die wässrige Phase mit EtOAc (3 x 25 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit Brine (30 mL) gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-10% MeOH in DCM über 30 min) gereinigt, dabei wurden 53 mg (0.22 mmol, 55%) des Produktes **4.83** (*cis/trans* = 0.8/1, bestimmt mittels $^1\text{H-NMR}$) als gelblicher Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der Protonen normiert auf das jeweilige Isomer, bei Überlagerung normiert auf ein Isomer.</p> <p>δ (ppm) = 12.78 (s(b), 1H, 1-OOH_{cis/trans}), 9.62 (s(b), 1H, 11-OH_{cis/trans}), 7.91 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 3/3'-H_{trans}), 7.82 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 3/3'-H_{cis}), 7.64 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 4/4'-H_{trans}), 7.47 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, 9/9'-H_{trans}), 7.35 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, 4/4'-H_{cis}), 7.30 (d, ³J_{trans} = 16.5 Hz, 1H, 7-H_{trans}), 7.08 (d, ³J_{trans} = 16.5 Hz, 1H, 6-H_{trans}), 7.05 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, 9/9'-H_{cis}), 6.79 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, 10/10'-H_{trans}), 6.65 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, 10/10'-H_{cis}), 6.62 (d, ³J_{cis} = 12.1 Hz, 1H, 7-H_{cis}), 6.50 (d, ³J_{cis} = 12.1 Hz, 1H, 6-H_{cis}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der C-Atome normiert auf das jeweilige Isomer. Zuweisung zum Isomer erfolgte auf Grundlage der Signalintensitäten.</p> <p>δ (ppm) = 167.1 (C1_{trans}), 167.0 (C1_{cis}), 157.8 (C11_{cis}), 157.0 (C11_{trans}), 142.0 (C5_{cis}), 142.0 (C5_{trans}), 131.8 (C7_{cis}), 131.0 (C7_{trans}), 130.0 (2C, C3/3'_{cis}), 129.7 (2C, C3/3'_{trans}), 129.3 (2C, C4/4'_{cis}), 129.0 (C2_{cis}), 128.8 (C2_{trans}), 128.5 (2C, C9/9'_{cis}), 128.3 (2C, C4/4'_{trans}), 127.7 (C8_{trans}), 126.9 (C8_{cis}), 126.5 (C6_{cis}), 125.9 (2C, 9/9'_{trans}), 124.0 (C6_{trans}), 115.6 (2C, C10/10'_{trans}), 115.2 (2C, C10/10'_{cis}).</p>
HR-MS: (APCI)	<p>Für C₁₅H₁₁O₃ (M-H)⁻</p> <p>ber.: 239.0714</p> <p>gef.: 239.0715</p>
EA:	<p>Für C₁₅H₁₂O₃ x 0.25 H₂O ber./gef. (%)</p> <p>N: 0.00 / 0.16</p> <p>C: 73.61 / 73.53</p> <p>H: 5.15 / 5.19</p>
Smp.	281.3 °C

6.4.42 Verbindung 4.92

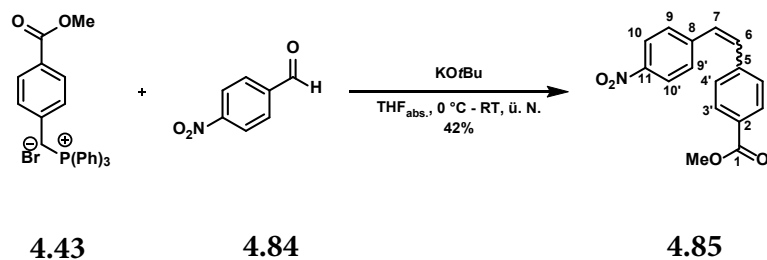


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.80	1.00	1.99	0.59	296.32		
35% NaOH (aq.)			0.75 mL/mmol			1.5
THF/MeOH (2:1)			11 mL/mmol			22
Pd/C (10% Pd)	7.5 mol%	0.15	0.16	106.42		
MeOH			7.5 mL/mmol			15

Eine Lösung von **4.80** (0.59 g, 1.99 mmol, 1.00 äq) in THF/MeOH (2:1, 22 mL) wurde mit 35% NaOH (aq., 1.5 mL) versetzt und ü. N. bei 50 °C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in H₂O (20 mL) aufgenommen und mit 4 M HCl (aq.) ein pH < 2 eingestellt. Die wässrige Lösung wurde mit EtOAc (3 x 50 mL) extrahiert, die vereinigte organische Phase mit Brine (30 mL) gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in MeOH (15 mL) gelöst, mit Pd/C (10% Pd, 0.16 g, 0.15 mmol, 7.5 mol%) versetzt und anschließend unter H₂-Atmosphäre für 3 h gerührt. Daraufhin wurde der Ansatz über Celite filtriert, mit MeOH nachgespült und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-10% MeOH in DCM über 30 min) gereinigt. Dabei wurden 0.39 g (1.59 mmol, 80%) des Produktes **4.92** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 12.72 (s(b), 1H, 1-OOH), 9.11 (s(b), 1H, 11-OH), 7.84 (d, ³ J = 8.2 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.31 (d, ³ J = 8.0 Hz, 2H, 4/4'-H), 6.99 (d, ³ J = 8.5 Hz, 2H, 9/9'-H), 6.65 (d, ³ J = 8.5 Hz, 2H, 10/10'-H), 2.90 - 2.86 (m, 2H, 6-H ₂ /7-H ₂)*, 2.79 - 2.76 (m, 2H, 6-H ₂ /7-H ₂)*.
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 167.3 (C1), 155.4 (C11), 147.0 (C5), 131.2 (C8), 129.2 (2C, C3/3' / C4/4' / C9/9')*, 129.2 (2C, C3/3' / C4/4' / C9/9')*, 128.6 (2C, C3/3' / C4/4' / C9/9')*, 128.4 (C2), 115.0 (2C, C10/10'), 37.3 (C6), 35.8 (C7).
HR-MS:	Für C ₁₅ H ₁₃ O ₃ (M-H) ⁻ ber.: 241.0870 gef.: 241.0877
EA:	Für C ₁₅ H ₁₄ O ₃ ber./gef. (%) N: 0.00 / 0.18 C: 74.36 / 74.02 H: 5.82 / 5.99
Smp.	218.3 °C

6.4.43 Verbindung 4.85

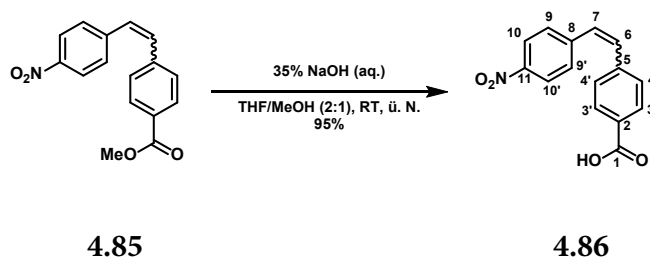


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4-Nitro- benzaldehyd	1.00	5.00	0.76	151.12		
4.43	1.20	6.00	2.95	491.36		
KOtBu	1.20	6.00	0.67	112.21		
THF _{abs.}		2.5 mL/mmol + 2.0 mL/mmol				13 + 10

Unter Argon-Atmosphäre wurde KOtBu (0.67 g, 6.00 mmol, 1.20 äq) in THF_{abs.} (13 mL) suspendiert und mit **4.43** (2.95 g, 6.00 mmol, 1.20 äq) versetzt. Der Ansatz wurde für 30 min bei RT gerührt, auf 0 °C gekühlt und tropfenweise mit einer Lösung von 4-Nitrobenzaldehyd (**4.84**, 0.76 g, 5.00 mmol, 1.00 äq) in THF_{abs.} (10 mL) versetzt. Die resultierende Mischung wurde für 1 h bei 0 °C und dann ü. N. bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit sat. NH₄Cl (aq., 50 mL) versetzt und mit DCM (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-20% EtOAc in CH über 40 min) gereinigt. Dabei wurden 0.59 g (2.09 mmol, 43%) des Produktes **4.85** (*cis/trans* = 20/1, bestimmt mittels ¹H-NMR) als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der Protonen normiert auf das jeweilige Isomer</p> <p>δ (ppm) = 8.25 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, 10/10'-H_{trans}), 8.12 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, 10/10'-H_{cis}), 7.99 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 3/3'-H_{trans}), 7.91 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H, 9/9'-H_{trans}), 7.86 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 3/3'-H_{cis}), 7.81 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, 4/4'-H_{cis}), 7.62 (d, ³J_{trans} = 16.7 Hz, 1H, 6-H_{trans}), 7.57 (d, ³J_{trans} = 16.5 Hz, 1H, 7-H_{trans}), 7.44 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H, 9/9'-H_{cis}), 7.34 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 4/4'-H_{cis}), 6.94 (d, ³J_{cis} = 12.4 Hz, 1H, 6-H_{cis}), 6.88 (d, ³J_{cis} = 12.4 Hz, 1H, 7-H_{cis}), 3.87 (s, 3H, -OMe_{trans}), 3.83 (s, 3H, -OMe_{cis}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Aufgrund der niedrigen Signalintensität sind die Signale des <i>trans</i>-Isomers nicht eindeutig zuzuordnen. Zugeordnete Signale beziehen sich auf das <i>cis</i>-Isomer.</p> <p>δ (ppm) = 165.8 (C1), 146.3 (C11), 143.4 (C8), 140.9 (C5), 132.3 (C6), 131.9 (C_{trans}), 130.0 (C7), 129.8 (2C, C10/10'), 129.6 (C_{trans}), 129.4 (2C, C3/3'), 129.1 (C_{trans}), 128.9 (2C, C9/9'), 128.7 (C2), 127.7 (C_{trans}), 127.2 (C_{trans}), 124.0 (C_{trans}), 123.6 (2C, C4/4'), 52.1 (-OMe).</p>
HR-MS:	<p>Für C₁₆H₁₃NO₄Na (M+Na)⁺</p> <p>ber.: 306.0737</p> <p>gef.: 306.0745</p>
EA:	<p>Für C₁₆H₁₃NO₄ ber./gef. (%)</p> <p>N: 4.94 / 4.95</p> <p>C: 67.84 / 67.52</p> <p>H: 4.63 / 4.68</p>
Smp.	81.3 °C

6.4.44 Verbindung 4.86

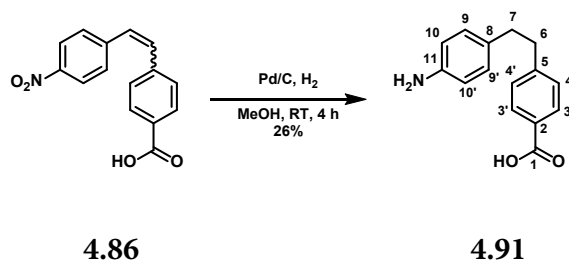


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.85	1.00	1.06	0.30	283.28		
35% NaOH (aq.)			1 mL/mmol			1.1
THF/MeOH (2:1)			15 mL/mmol			16

Eine Suspension von **4.85** (0.30 g, 1.06 mmol, 1.00 äq) in THF/MeOH (2:1, 16 mL) wurde mit 35% NaOH (aq., 1.1 mL) versetzt und ü. N. bei RT gerührt. Am nächsten Tag wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 4 M HCl (aq., 15 mL) aufgenommen und die wässrige Phase mit DCM (3 x 25 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-10% MeOH in DCM) gereinigt, dabei wurden 0.27 g (1.01 mmol, 95%) des Produktes **4.86** (*cis/trans* = 10/1, bestimmt mittels ^1H -NMR) als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der Protonen normiert auf das jeweilige Isomer, bei Überlagerung normiert auf ein Isomer.</p> <p>δ (ppm) = 12.95 (s, 1H, 1-OOH_{cis/trans}), 8.25 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, 10/10'-H_{trans}), 8.13 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H, 10/10'-H_{cis}), 7.98 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 3/3'-H_{trans}), 7.91 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, 9/9'-H_{trans}), 7.85 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 3/3'-H_{cis}), 7.79 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 4/4'-H_{trans}), 7.61 (d, ³J_{trans} = 16.7 Hz, 1H, 6-H_{trans}), 7.56 (d, ³J_{trans} = 16.7 Hz, 1H, 7-H_{trans}), 7.45 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H, 9/9'-H_{cis}), 7.32 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 4/4'-H_{cis}), 6.94 (d, ³J_{cis} = 12.4 Hz, 1H, 6-H_{cis}), 6.86 (d, ³J_{cis} = 12.4 Hz, 1H, 7-H_{cis}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Aufgrund der niedrigen Signalintensität sind die Signale des <i>trans</i>-Isomers nicht eindeutig zuzuordnen. Zugeordnete Signale beziehen sich auf das <i>cis</i>-Isomer.</p> <p>δ (ppm) = 166.8 (C1), 146.3 (C11), 143.5 (C8), 140.4 (C5), 132.5 (C6), 132.1 (C_{trans}), 129.9 (C2), 129.8 (3C, C7 + C10/10'), 129.5 (2C, C3/3'), 128.7 (2C, C9/9'), 127.6 (C_{trans}), 127.1 (C_{trans}), 124.0 (C_{trans}), 123.7 (2C, C4/4').</p>
HR-MS: (APCI)	<p>Für C₁₅H₁₀NO₄H (M)⁻</p> <p>ber.: 269.0694</p> <p>gef.: 269.0701</p>
EA:	<p>Für C₁₅H₁₁NO₄ ber./gef. (%)</p> <p>N: 5.20 / 5.20</p> <p>C: 66.91 / 66.52</p> <p>H: 4.12 / 4.13</p>
Smp.	176.6 °C

6.4.45 Verbindung 4.91

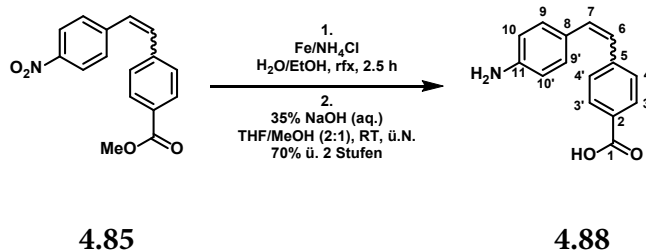


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.86	1.00	0.74	0.20	269.26		
Pd/C	10 mol%	0.07	0.07	106.42		
(10% Pd)						
MeOH			13.5 mL/mmol			10

Eine Lösung von **4.86** (0.20 g, 0.74 mmol, 1.00 äq) in MeOH (10 mL) wurde mit Pd/C (0.07 g, 0.07 mmol, 10 mol%) versetzt und unter H₂-Atm. für 4 h gerührt. Anschließend wurde der Ansatz über Celite filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-10% MeOH in DCM) gereinigt, dabei wurden 46 mg (0.19 mmol, 26%) des Produktes **4.91** als gelblicher Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); Signale für 1-OOH und 11-NH ₂ stark verbreitert, keine Zuordnung möglich. δ (ppm) = 7.83 (d, 3J = 8.0 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.30 (d, 3J = 8.0 Hz, 2H, 4/4'-H), 6.85 (d, 3J = 8.3 Hz, 2H, 9/9'-H), 6.47 (d, 3J = 8.3 Hz, 2H, 10/10'-H), 2.85 (dd, 2J = 9.2 Hz, $^3J_{\text{cis}}$ = 7.2 Hz, $^3J_{\text{trans}}$ = 6.0 Hz, 2H, 6-H ₂), 2.71 (dd, 2J = 9.2 Hz, $^3J_{\text{cis}}$ = 7.2 Hz, $^3J_{\text{trans}}$ = 6.0 Hz, 2H, 7-H ₂).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 167.3 (C1), 147.2 (C5), 146.5 (C11), 129.2 (2C, C3/3'), 128.7 (2C, C4/4' / C9/9')*, 128.5 (2C, C4/4' / C9/9')*, 128.3 (C2/C8)*, 128.1 (C2/C8)*, 113.9 (2C, C10/10'), 37.5 (C6), 35.9 (C7).
HR-MS:	Für C ₁₅ H ₁₅ NO ₂ H (M+H) ⁺ ber.: 242.1176 gef.: 242.1182
EA:	Für C ₁₅ H ₁₅ NO ₂ ber./gef. (%) N: 5.81 / 5.79 C: 74.67 / 74.41 H: 6.27 / 6.22
Smp.	223.8 °C

6.4.46 Verbindung 4.88

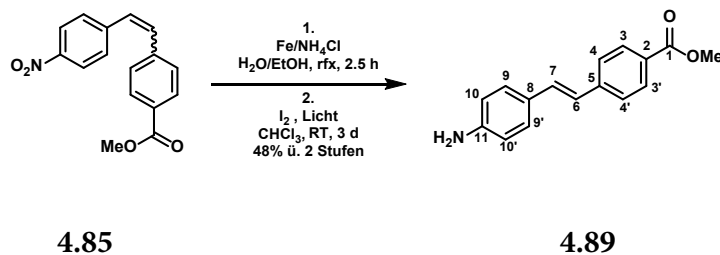


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.85	1.00	0.71	0.20	283.28		
Eisenpulver	10.0	7.10	0.40	55.85		
NH ₄ Cl	0.53	0.38	21 mg	53.49		
EtOH			1.6 mL/mmol			1.1
H ₂ O			2.5 mL/mmol			1.8
35% NaOH (aq.)			1 mL/mmol			0.59
THF/MeOH (2:1)			15 mL/mmol			8.9

Eine Suspension von **4.85** (0.20 g, 0.71 mmol, 1.00 äq) in H₂O (1.8 mL) und EtOH (1.1 mL) wurde mit Eisenpulver (0.40 g, 7.10 mmol, 10.0 äq) und NH₄Cl (21 mg, 0.38 mmol, 0.53 äq) versetzt und für 2.5 h unter rfx gerührt. Anschließend wurde der Ansatz in MeOH (20 mL) aufgenommen, über Celite filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in THF/MeOH (2:1, 8.9 mL) gelöst, mit 35% NaOH (0.59 mL) versetzt und ü. N. bei RT gerührt. Am nächsten Tag wurde der Ansatz mit H₂O (10 mL) verdünnt und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die wässrige Phase wurde mit 4 M HCl (aq.) auf einen pH-Wert von 2-3 eingestellt und dann mit EtOAc (3 x 20 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit Brine gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-10% MeOH in DCM über 30 min) gereinigt, dabei wurden 0.12 g (0.50 mmol, 70%) des Produktes **4.88** (*cis/trans* = 1/0.85, bestimmt mittels ¹H-NMR) als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der Protonen normiert auf das jeweilige Isomer, bei Überlagerung normiert auf ein Isomer.</p> <p>δ (ppm) = 12.71 (s(b), 1H, 1-OOH_{cis/trans}), 7.88 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, 3/3'-H_{trans}), 7.82 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 3/3'-H_{cis}), 7.59 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, 4/4'-H_{trans}), 7.38 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 4/4'-H_{cis}), 7.32 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, 9/9'-H_{trans}), 7.21 (d, ³J_{trans} = 16.2 Hz, 1H, 7-H_{trans}), 6.96 (d, ³J_{trans} = 16.2 Hz, 1H, 6-H_{trans}), 6.93 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, 9/9'-H_{cis}), 6.57 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, 10/10'-H_{trans}), 6.52 (d, ³J_{cis} = 12.4 Hz, 1H, 7-H_{cis}), 6.42 (d, ³J_{cis} = 8.5 Hz, 2H, 10/10'-H_{cis}), 6.35 (d, ³J_{cis} = 12.1 Hz, 1H, 6-H_{cis}), 5.36 (s(b), 2H, 11-NH_{2 cis/trans}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der C-Atome normiert auf das jeweilige Isomer.</p> <p>δ (ppm) = 167.1/167.0 (C1_{cis/trans}), 149.3/148.5 (C11_{cis/trans}), 142.6/142.5 (C5_{cis/trans}), 132.4/131.8 (C7_{cis/trans}), 129.7 (2C, C3/3'_{trans}), 129.2 (2C, C4/4'_{cis}), 128.6/128.1 (C2_{cis/trans}), 128.4 (2C, C9/9'_{cis}), 128.1 (2C, C4/4'_{trans}), 125.5 (2C, C9/9'_{trans}), 124.4 (C6_{cis}), 124.2 (C8_{trans}), 123.3 (C8_{cis}), 121.5 (C6_{trans}), 113.8 (2C, C10/10'_{trans}), 113.4 (2C, C10/10'_{cis}).</p>
HR-MS:	<p>Für C₁₅H₁₂NO₂ (M-H)⁻ ber.: 238.0874 gef.: 238.0880</p>
EA:	<p>Für C₁₅H₁₃NO₂ ber./gef. (%) N: 5.85 / 5.93 C: 75.30 / 74.94 H: 5.48 / 5.51</p>
Smp.	Zersetzung bei > 250 °C

6.4.47 Verbindung 4.89

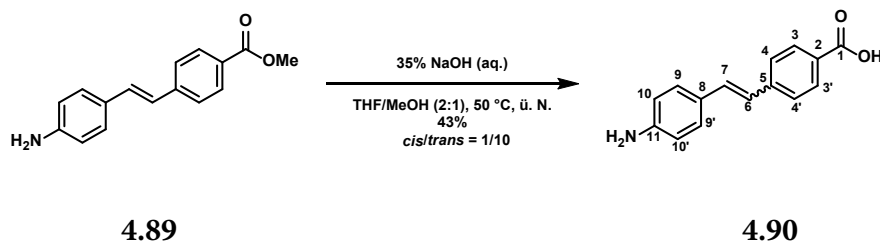


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.85	1.00	1.41	0.40	283.28		
Eisenpulver	10.0	14.1	0.79	55.85		
NH ₄ Cl	0.53	0.75	40 mg	53.49		
EtOH			1.6 mL/mmol			2.3
H ₂ O			2.5 mL/mmol			3.5
I ₂	10 mol%	0.10	13 mg	126.90		
CHCl ₃			15 mL/mmol			14

Eine Suspension von **4.85** (0.40 g, 1.41 mmol, 1.00 äq) in EtOH (2.3 mL) und H₂O (3.5 mL) wurde mit Eisenpulver (0.79 g, 14.1 mmol, 10.0 äq) und NH₄Cl (40 mg, 0.75 mmol, 0.53 äq) versetzt und unter rfx für 2.5 h gerührt. Nach dem Abkühlen wurde der Ansatz in MeOH (20 mL) aufgenommen, über Celite filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-3% MeOH in DCM über 30 min) gereinigt, dabei wurden 0.24 g (0.96 mmol) des entsprechenden Aminostilbens als *cis/trans*-Gemisch erhalten. Dieses wurde in CHCl₃ (14 mL) gelöst, mit I₂ (13 mg, 0.10 mmol, 10 mol%) versetzt und für 3 d unter Lichteinfluss durch Tageslicht gerührt. Dann wurde der Ansatz in EtOAc (30 mL) aufgenommen, mit sat. Na₂S₂O₃ (aq., 2 x 20 mL) gewaschen, die vereinigte organische Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-3% MeOH in DCM über 30 min) gereinigt, dabei wurden 0.17 g (0.68 mmol, 48% ü. 2 Stufen) des Produktes **4.89** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 7.90 (d, ³ J = 8.5 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.62 (d, ³ J = 8.5 Hz, 2H, 9/9'-H), 7.32 (d, ³ J = 8.5 Hz, 2H, 4/4'-H), 7.23 (d, ³ J _{trans} = 16.5 Hz, 1H, 7-H), 6.96 (d, ³ J _{trans} = 16.2 Hz, 1H, 6-H), 6.58 (d, ³ J = 8.5 Hz, 2H, 10/10'-H), 5.41 (s, 2H, 11-NH ₂), 3.84 (s, 3H, 1-OMe).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 166.0 (C1), 149.4 (C11), 142.9 (C5), 132.1 (C7), 129.5 (2C, C3/3'), 128.2 (2C, C9/9'), 126.9 (C2), 125.7 (2C, C4/4'), 124.1 (C8), 121.3 (C6), 113.8 (2C, C10/10'), 51.9 (-OMe).
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₁₅ NO ₂ H (M+H) ⁺ ber.: 254.1176 gef.: 254.1179
Smp.	211.7 °C

6.4.48 Verbindung 4.90

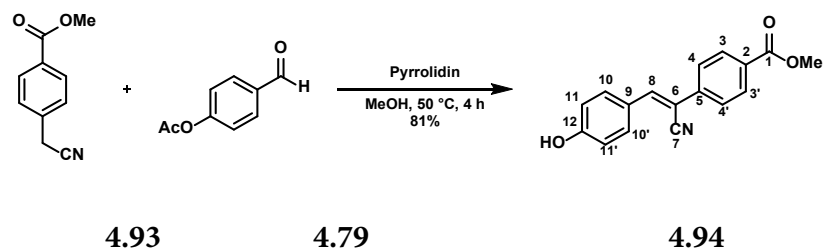


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
4.89	1.00	0.91	0.23	253.30		
35% NaOH (aq.)			1 mL/mmol			0.9
THF/MeOH (2:1)			15 mL/mmol			14

Eine Lösung von **4.89** (0.23 g, 0.91 mmol, 1.00 äq) in THF/MeOH (2:1, 14 mL) wurde mit 35% NaOH (aq., 0.9 mL) versetzt und ü. N. bei 50 °C gerührt. Dann wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in H₂O (10 mL) aufgenommen, anschließend wurde mit 4 M HCl (aq.) ein pH-Wert von ca. 2-3 eingestellt. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3 x 15 mL) extrahiert, die vereinigte organische Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels präparativer HPLC (5-95% MeCN in H₂O über 1 h) gereinigt, dabei wurden 94 mg (0.39 mmol, 43%) des Produkts **4.90** (*cis/trans* = 1/10, bestimmt mittels ¹H-NMR) als brauner Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der Protonen normiert auf das jeweilige Isomer, bei Überlagerung normiert auf ein Isomer.</p> <p>δ (ppm) = 12.58 (s(b), 1H, 1-OOH), 7.88 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, 3/3'-H_{trans}), 7.82 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, 3/3'-H_{cis}), 7.59 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, 9/9'-H_{trans}), 7.38 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 9/9'-H_{cis}), 7.32 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, 4/4'-H_{trans}), 7.21 (d, ³J_{trans} = 16.2 Hz, 1H, 7-H_{trans}), 6.95 (d, ³J_{trans} = 16.2 Hz, 1H, 6-H_{trans}), 6.93 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 4/4'-H_{cis}), 6.58 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, 10/10'-H_{trans}), 6.52 (d, ³J_{cis} = 12.1 Hz, 1H, 7-H_{cis}), 6.43 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, 10/10'-H_{cis}), 6.35 (d, ³J_{cis} = 12.4 Hz, 1H, 6-H_{cis}), 5.47 (s(b), 2H, 11-NH_{2 cis/trans}).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der C-Atome normiert auf das jeweilige Isomer. Zuweisung zum Isomer erfolgte auf Grundlage der „Signalintensitäten“.</p> <p>δ (ppm) = 167.1 (C1_{trans}), 167.0 (C1_{cis}), 149.3 (C11_{trans}), 148.5 (C11_{cis}), 142.6 (C5_{cis}), 142.5 (C5_{trans}), 132.4 (C7_{cis}), 131.8 (C7_{trans}), 129.7 (2C, C3/3'_{trans}), 129.3 (2C, C3/3'_{cis}), 128.7 (C2_{cis}), 128.4 (C9/9'_{cis}), 128.2 (C2_{trans}), 128.1 (2C, C9/9'_{trans}), 125.5 (2C, C4/4'_{trans/cis}), 124.4 (C6_{cis}), 124.2 (C8_{trans}), 123.3 (C8_{cis}), 121.5 (C6_{trans}), 113.8 (2C, C10/10'_{trans}), 113.4 (2C, C10/10'_{cis}).</p>
HR-MS:	<p>Für C₁₅H₁₂NO₂ (M-H)⁻</p> <p>ber.: 238.0874</p> <p>gef.: 238.0876</p>
EA:	<p>Für C₁₅H₁₃NO₂ x 0.25 H₂O ber./gef. (%)</p> <p>N: 5.75 / 5.89</p> <p>C: 73.91 / 73.72</p> <p>H: 5.58 / 5.54</p>
Smp.	Zersetzung bei > 270 °C

6.4.49 Verbindung 4.94

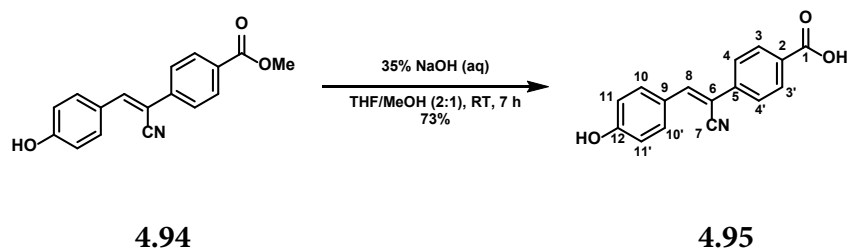


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
4-Cyanomethyl- methylbenzoat	1.00	3.00	0.53	175.19		
4-Acetoxy- benzaldehyd	1.00	3.00	0.49	164.16	1.17	0.42
Pyrrolidin	2.00	6.00	0.43	71.12	0.86	0.50
MeOH			2 mL/mmol			6

Eine Lösung aus (4-Cyanomethyl)methylbenzoat (**4.93**, 0.53 g, 3.00 mmol, 1.00 äq) und 4-Acetoxybenzaldehyd (**4.79**, 0.42 mL, 3.00 mmol, 1.00 äq) in MeOH (6 mL) wurde mit Pyrrolidin (0.50 mL, 6.00 mmol, 2.00 äq) versetzt und für 4 h bei 50 °C gerührt. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit CH gewaschen und im Vakuum getrocknet. Dabei wurden 0.68 g (2.43 mmol, 81%) des Produktes **4.94** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 10.34 (12-OH), 8.04 (s, 1H, 8-H), 8.03 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.90 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 4/4'-H / 10/10'-H)*, 7.85 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 4/4'-H / 10/10'-H)*, 6.93 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 11/11'-H), 3.87 (s, 3H, 1-OMe).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 165.6 (C1), 160.6 (C12), 144.8 (C8), 138.8 (C5), 131.8 (2C, C3/3'), 129.8 (2C, C10/10'), 129.1 (C2), 125.5 (2C, C4/4'), 124.4 (C9), 118.2 (C7), 115.9 (2C, C11/11'), 104.5 (C6), 52.2 (-OMe).
HR-MS: (APCI)	Für C ₁₇ H ₁₂ NO ₃ (M-H) ⁻ ber.: 278.0823 gef.: 278.0831
EA:	Für C ₁₇ H ₁₃ NO ₃ ber./gef. (%) N: 5.02 / 5.13 C: 73.11 / 72.81 H: 4.69 / 4.74
Smp.	242.5 °C

6.4.50 Verbindung 4.95

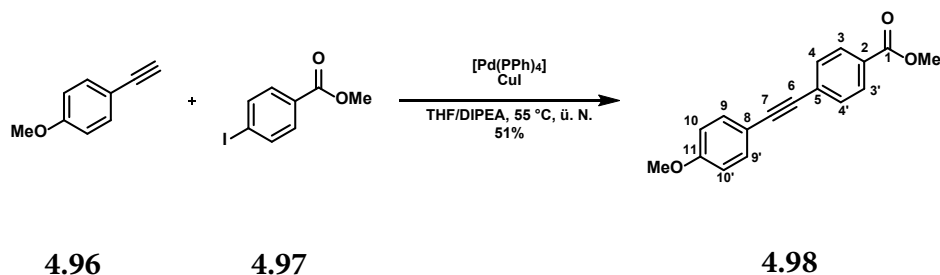


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
4.94	1.00	1.07	0.30	279.30		
35% NaOH (aq.)			0.5 mL/mmol			0.5
THF/MeOH (2:1)			15 mL/mmol			16

Eine Lösung von **4.94** (0.30 g, 1.07 mmol, 1.00 äq) in THF/MeOH (2:1, 16 mL) wurde mit 35% NaOH (aq., 0.5 mL) versetzt und für 7 h bei RT gerührt. Anschließend wurde mit 4 M HCl (aq.) ein pH < 2 eingestellt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-15% MeOH in DCM über 30 min) gereinigt, dabei wurden 0.21 g (0.78 mmol, 73%) des Z-Produktes **4.95** (bestimmt mittels *gated-decoupled* ^{13}C -NMR-Spektroskopie) als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 11.53 (s(b), 2H, 1-OOH + 12-OH), 8.02 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 3/3'-H), 8.02 (s, 1H, 8-H), 7.90 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 10/10'-H), 7.82 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 4/4'-H), 6.93 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 11/11'-H).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 166.9 (C1), 160.5 (C12), 144.5 (C8), 138.3 (C5), 131.8 (2C, C3/3'), 130.7 (C2), 130.0 (2C, C10/10'), 125.3 (2C, C4/4'), 124.5 (C9), 118.3 (C7), 116.0 (2C, C11/11'), 104.8 (C6).
HR-MS: (APCI)	Für C ₁₆ H ₁₀ NO ₃ (M-H) ⁻ ber.: 264.0666 gef.: 264.0674
EA:	Für C ₁₆ H ₁₁ NO ₃ x 0.75 H ₂ O ber./gef. (%) N: 5.02 / 4.99 C: 68.93 / 69.06 H: 4.52 / 4.33
Smp.	Zersetzung bei > 300 °C

6.4.51 Verbindung 4.98

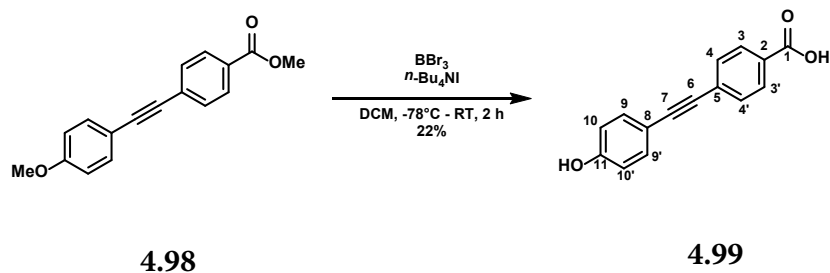


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
Methyl-4-iodobenzoat	1.00	10.0	2.62	262.05		
4-Methoxyphenylacetylen	1.00	10.0	1.32	132.16	1.02	1.3
[Pd(PPh ₃) ₄]	5 mol%	0.05	0.58	1155.56		
CuI	10 mol%	1.00	0.19	190.45		
DIPEA _{abs.}			2 mL/mmol			20
THF _{abs.}			2 mL/mmol			20

In einem ausgeheizten Kolben wurde CuI (0.19 g, 1.00 mmol, 10 mol%) vorgelegt und erneut für 15 min evakuiert. Anschließend wurden unter Argon THF_{abs.} (20 mL) und DIPEA_{abs.} (20 mL) zugegeben gefolgt von Methyl-4-iodobenzoat (**4.97**, 2.62 g, 10.0 mmol, 1.00 äq) und 4-Methoxyphenylacetylen (**4.96**, 1.3 mL, 10.0 mmol, 1.0 äq). Der Ansatz wurde für 10 min bei RT gerührt, mit [Pd(PPh₃)₄] (0.58 g, 0.05 mmol, 5 mol%) versetzt und im Anschluss ü. N. bei 55 °C gerührt. Am nächsten Tag wurde das Reaktionsgemisch über Celite filtriert und mit EtOAc (2 x 100 mL) nachgespült. Die organische Phase wurde mit sat. NH₄Cl (aq., 2 x 100 mL) und Brine (100 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-3% EtOAc in CH₂, manueller Gradient, Edukt eluiert bei 1%, Produkt eluiert bei 3%) gereinigt, dabei wurden 1.37 g (5.14 mmol, 51%) des Produktes **4.98** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, CDCl ₃ , 300 K); δ (ppm) = 8.01 (d, ³ J = 8.6 Hz, 1H, 3/3'-H), 7.56 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 9/9'-H), 7.49 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 4/4'-H), 6.89 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 10/10'-H), 3.92 (s, 3H, 1-OMe), 3.83 (s, 3H, 11-OMe).
¹³C-NMR:	(125 MHz, CDCl ₃ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 166.8 (C1), 160.1 (C11), 133.4 (2C, C3/3'), 131.4 (2C, C9/9'), 129.6 (2C, C4/4'), 129.2 (C2/C5)*, 128.5 (C2/C5)*, 114.9 (C8), 114.2 (2C, C10/10'), 92.7 (C7), 87.6 (C6), 55.4 (11-OMe), 52.3 (1-OMe).
HR-MS: (EI)	Für C ₁₇ H ₁₄ O ₃ (M) ⁺ ber.: 266.0943 gef.: 266.0959
EA:	Für C ₁₇ H ₁₄ O ₃ ber./gef. (%) N: 0.00 / 0.12 C: 76.68 / 76.50 H: 5.30 / 5.32
Smp.	157.1 °C

6.4.52 Verbindung 4.99

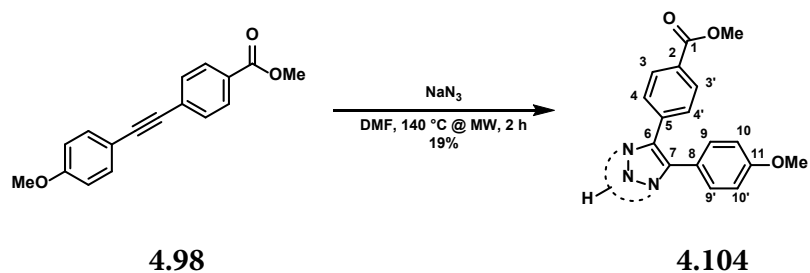


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.98	1.00	1.50	0.40	266.30		
BBr ₃ (1 M in DCM)	6.00	9.00				9
<i>n</i> -Bu ₄ NI	1.20	1.80	0.66	369.37		
DCM _{abs.}			8.3 mL/mmol			13

Eine Lösung von **4.98** (0.40 g, 1.50 mmol, 1.00 äq) in DCM_{abs.} (13 mL) wurde unter Argon mit *n*-Bu₄NI (0.66 g, 1.80 mmol, 1.20 äq) versetzt und auf -78 °C gekühlt. Dann wurde 1 M BBr₃ (DCM, 9 mL, 9.00 mmol, 6.00 äq) bei -78 °C zugetropft und nach vollständiger Zugabe für 2 h bei RT gerührt. Anschließend wurde vorsichtig H₂O zugetropft, bis keine Wärmeentwicklung mehr auftrat, danach wurde der Ansatz mit 2 M HCl (aq., 25 mL) versetzt und mit DCM (3 x 30 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert und zunächst mittels MPLC (0-1% MeOH in Et₂O über 20 min) vorgereinigt. Das isolierte Rohprodukt wurde mittels präparativer HPLC (5-95% MeCN in H₂O über 1 h) vollständig gereinigt, dabei wurden 79 mg (0.33 mmol, 22%) des Produktes **4.99** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 13.04 (s, 1H, 1-OOH), 9.98 (s, 1H, 11-OH), 7.94 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.60 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 9/9'-H), 7.41 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 4/4'-H), 6.82 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 10/10'-H).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 166.7 (C1), 158.4 (C11), 133.2 (2C, C3/3'), 131.1 (2C, C9/9'), 129.9 (C2), 129.5 (2C, C4/4'), 127.3 (C5), 115.8 (2C, C10/10'), 111.9 (C8), 92.9 (C7), 86.8 (C6).
HR-MS: (APCI)	Für C ₁₅ H ₉ O ₃ (M-H) ⁻ ber.: 237.0557 gef.: 237.0563
EA:	Für C ₁₅ H ₁₀ O ₃ x 0.25 H ₂ O ber./gef. (%) N: 0.00 / 0.21 C: 74.22 / 74.21 H: 4.36 / 4.33
Smp.	248.7 °C

6.4.53 Verbindung 4.104

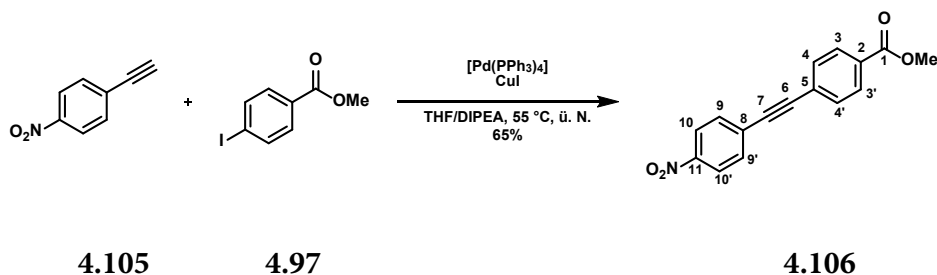


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.98	1.00	0.37	0.10	266.30		
NaN ₃	3.00	1.11	0.07	65.01		
DMF			10 mL/mmol			3.7

Eine Lösung von **4.98** (0.10 g, 0.37 mmol, 1.00 äq) und NaN₃ (0.07 g, 1.11 mmol, 3.00 äq) in DMF (3.7 mL) wurde in der MW bei 140 °C/200 W für 2 h gerührt. Anschließend wurde der Ansatz in EtOAc (15 mL) aufgenommen, mit 5% LiCl (aq., 2 x 15 mL) und Brine (15 mL) gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-40% EtOAc in CH über 40 min) gereinigt, dabei wurden 22 mg (0.07 mmol, 19%) des Produktes **4.104** als gelblicher Feststoff erhalten. Die tautomere Form des Triazolringes wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht aufgeklärt.

¹H-NMR: (250 MHz, DMSO-d₆, 300 K);
δ (ppm) = 15.39 (s(b), 1H, Triazol-NH), 7.98 (d, ³J = 7.9 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.66 (d, ³J = 7.8 Hz, 2H, 4/4'-H), 7.41 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 9/9'-H), 7.01 (d, ³J = 8.1 Hz, 2H, 10/10'-H), 3.86 (s, 3H, 1-OMe), 3.79 (s, 3H, 11-OMe).

6.4.54 Verbindung 4.106

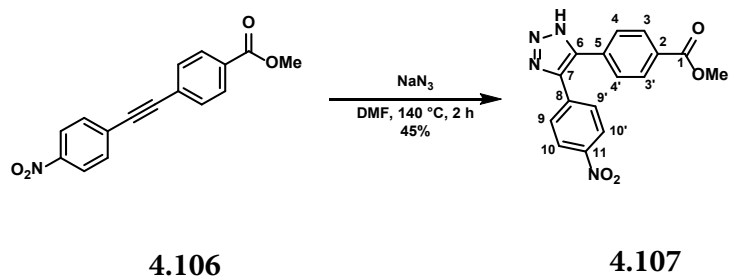


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
Methyl-4-iodobenzoat	1.00	10.0	2.62	262.05		
4-Nitro-phenylacetylen	1.00	10.0	1.47	147.13		
[Pd(PPh ₃) ₄]	5 mol%	0.50	0.58	1155.56		
CuI	10 mol%	1.00	0.19	190.45		
DIPEA _{abs.}			2 mL/mmol			20
THF _{abs.}			2 mL/mmol			20

In einem ausgeheizten Kolben wurde CuI (0.19 g, 1.00 mmol, 10 mol%) vorgelegt und erneut für 15 min evakuiert. Anschließend wurden unter Argon THF_{abs.} (20 mL) und DIPEA_{abs.} (20 mL) zugegeben gefolgt von Methyl-4-iodobenzoat (**4.97**, 2.62 g, 10.0 mmol, 1.00 äq) und 4-Nitrophenylacetylen (**4.105**, 1.47 g, 10.0 mmol, 1.00 äq). Der Ansatz wurde für 10 min bei RT gerührt, mit [Pd(PPh₃)₄] (0.58 g, 0.05 mmol, 5 mol%) versetzt und im Anschluss ü. N. bei 55 °C gerührt. Am nächsten Tag wurde das Reaktionsgemisch über Celite filtriert und mit EtOAc (2 x 100 mL) nachgespült. Die organische Phase wurde mit sat. NH₄Cl (aq., 2 x 100 mL) und Brine (100 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-10% EtOAc in CH, manueller Gradient, Edukt eluiert bei 2%, Produkt eluiert ab 3%) gereinigt, dabei wurden 1.81 g (6.45 mmol, 65%) des Produktes **4.106** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, CDCl ₃ , 300 K); δ (ppm) = 8.24 (d, ³ J = 9.2 Hz, 2H, 10/10'-H), 8.06 (d, ³ J = 8.7 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.69 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 9/9'-H), 7.62 (d, ³ J = 8.7 Hz, 2H, 4/4'-H), 3.94 (s, 3H, 1-OMe).
¹³C-NMR:	(125 MHz, CDCl ₃ , 300 K); δ (ppm) = 166.5 (C1), 147.4 (C11), 132.6 (2C, C10/10'), 131.9 (2C, C3/3'), 130.5 (C8), 129.8 (2C, C9/9'), 129.7 (C5), 126.8 (C2), 123.8 (2C, C4/4'), 93.7 (C6), 90.2 (C7), 52.5 (-OMe).
HR-MS: (EI)	Für C ₁₆ H ₁₁ NO ₄ ⁺ (M) ⁺ ber.: 281.0688 gef.: 281.0695
EA:	Für C ₁₆ H ₁₁ NO ₄ x 0.25 H ₂ O ber./gef. (%) N: 4.90 / 4.70 C: 67.25 / 67.51 H: 4.06 / 3.99
Smp.	155.2 °C

6.4.55 Verbindung 4.107

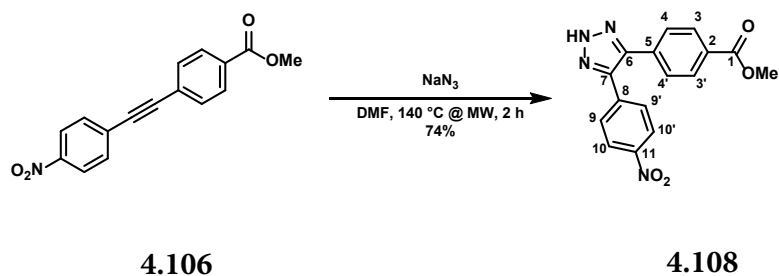


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
4.106	1.00	1.00	0.28	281.27		
NaN ₃	1.00	1.00	65 mg	65.01		
DMF			10 mL/mmol			10

Eine Lösung von **4.106** (0.28 g, 1.00 mmol, 1.00 äq) und NaN₃ (65 mg, 1.00 mmol, 1.00 äq) in DMF (10 mL) wurde für 2 h bei 140 °C/200 W in der Mikrowelle gerührt. Anschließend wurde der Ansatz in EtOAc (40 mL) aufgenommen, mit 5% LiCl (aq., 2 x 20 mL), H₂O (20 mL) und Brine (20 mL) gewaschen, die organische Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-10% MeOH in DCM über 30 min) gereinigt, dabei wurden 0.15 g (0.45 mmol, 45%) des Produktes **4.107** als gelblicher Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 13.12 (s(b), 1H, Triazol-NH), 8.27 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 10/10'-H), 8.00 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.74 (d, ³ J = 9.2 Hz, 2H, 9/9'-H), 7.60 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 4/4'-H), 4.30 (s, 3H, 1-OMe).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 166.8 (C1), 147.2 (C11), 143.7 (C6), 142.0 (C7), 136.8 (C8), 134.1 (C5), 131.0 (C2), 129.8 (2C, C10/10'), 128.8 (2C, C3/3'), 128.1 (2C, C9/9'), 124.0 (2C, C4/4'), 42.0 (-OMe).
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₁₁ N ₄ O ₄ (M-H) ⁻ ber.: 323.0786 gef.: 323.0794
Smp.	304.3 °C

6.4.56 Verbindung 4.108

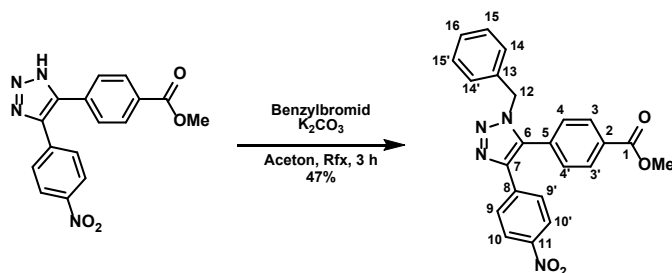


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.106	1.00	1.00	0.28	281.27		
NaN ₃	1.00	1.00	65 mg	65.01		
DMF			10 mL/mmol			10

Eine Lösung von **4.106** (0.28 g, 1.00 mmol, 1.00 äq) und NaN₃ (65 mg, 1.00 mmol, 1.00 äq) in DMF (10 mL) wurde bei 140 °C/300 W für 2 h in der MW gerührt. Anschließend wurde der Ansatz in 5% LiCl (aq., 30 mL) aufgenommen und mit DCM (3 x 40 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (15-40% EtOAc in CH über 35 min) gereinigt, dabei wurden 0.24 g (0.74 mmol, 74%) des Produktes **4.108** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 15.71 (s, 1H, Triazol-NH), 8.28 (d, ³ J = 9.2 Hz, 2H, 10/10'-H), 8.03 (d, ³ J = 8.8 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.77 (d, ³ J = 8.8 Hz, 2H, 9/9'-H), 7.66 (d, ³ J = 8.8 Hz, 2H, 4/4'-H), 3.88 (s, 3H, 1-OMe).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = schwache Signalintensität oder Signal stark verbreitert δ (ppm) = 165.8 (C1), 147.1 (C11), 140.5 (C7)*, 136.9 (C8)*, 134.4 (C5)*, 131.5/131.4 (C6)*, 129.7 (3C, C2 + C10/10'), 128.8 (2C, C3/3'), 128.4 (2C, C9/9'), 124.0 (2C, C4/4'), 52.2 (-OMe).
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₁₁ N ₄ O ₄ (M-H) ⁻ ber.: 323.0786 gef.: 323.0781
Smp.	180.6 °C

6.4.57 Verbindung 4.109

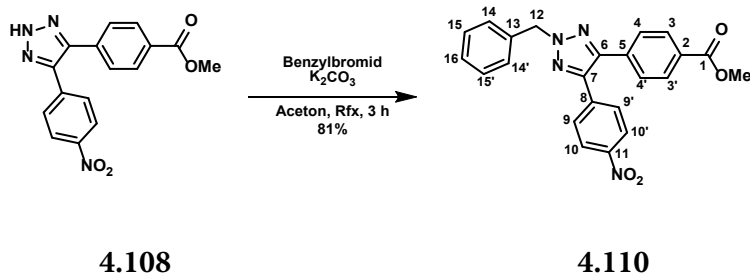
**4.107****4.109**

	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.107	1.00	0.34	0.11	324.30		
Benzylbromid	1.10	0.37	63 mg	171.04	1.44	44 μ L
K ₂ CO ₃	2.00	0.68	93 mg	138.21		
Aceton			10 mL/mmol			3.4

Eine Lösung von **4.107** (0.11 g, 0.34 mmol, 1.00 äq) in Aceton (3.4 mL) wurde mit K₂CO₃ (93 mg, 0.68 mmol, 2.00 äq) und Benzylbromid (44 μ L, 0.37 mmol, 1.10 äq) versetzt und für 3 h unter Rfx gerührt. Anschließend wurde der Ansatz in EtOAc (30 mL) aufgenommen, mit H₂O (10 mL) und Brine (10 mL) gewaschen, die organische Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-20% EtOAc in CH über 30 min) gereinigt, dabei wurden 65 mg (0.16 mmol, 47%) des Produktes **4.109** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, CDCl ₃ , 300 K); δ (ppm) = 8.22 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 10/10'-H), 8.11 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.70 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 9/9'-H), 7.59 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 4/4'-H), 7.48 - 7.32 (m, 5H, 14/14'-H + 15/15'-H + 16-H), 5.39 (s, 2H, 12-H ₂), 4.31 (s, 3H, 1-OMe).
¹³C-NMR:	(125 MHz, CDCl ₃ , 300 K); δ (ppm) = 166.0 (C1), 147.8 (C11), 144.6 (C7), 142.9 (C6), 137.3 (C5), 136.0 (C8), 135.0 (C13), 130.5 (C2), 130.4 (2C, C10/10'), 128.9 (2C, C3/3'), 128.8 (2C, C15/15'), 128.5 (2C, C14/14'), 128.4 (C16), 128.4 (2C, C9/9'), 124.1 (2C, C4/4'), 67.1 (C12), 42.3 (-OMe).
HR-MS: (APCI)	Für C ₂₃ H ₁₈ N ₄ O ₄ H (M+H) ⁺ ber.: 415.1401 gef.: 415.1401
Smp.	145.7 °C

6.4.58 Verbindung 4.110

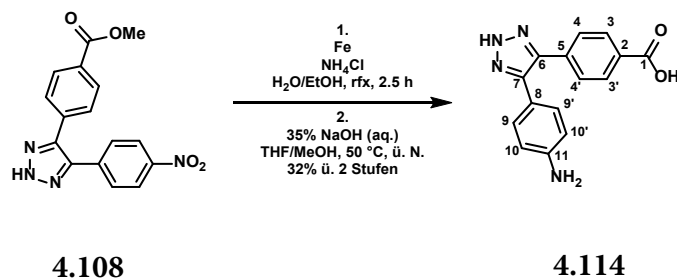


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.108	1.00	0.37	0.12	324.30		
Benzylbromid	1.10	0.41	70 mg	171.04	1.44	49 μ L
K ₂ CO ₃	2.00	0.74	0.10	138.21		
Aceton			10 mL/mmol			3.7

Eine Lösung von **4.108** (0.12 g, 0.37 mmol, 1.00 äq) in Aceton (3.7 mL) wurde mit K₂CO₃ (0.10 g, 0.74 mmol, 2.00 äq) und Benzylbromid (49 μ L, 0.41 mmol, 1.10 äq) versetzt und für 3 h unter Rfx gerührt. Anschließend wurde der Ansatz in EtOAc (20 mL) aufgenommen, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-20% EtOAc in CH über 30 min) gereinigt, dabei wurden 0.13 g (0.30 mmol, 81%) des Produktes **4.110** als gelblicher Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, CDCl ₃ , 300 K); δ (ppm) = 8.21 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 10/10'-H), 8.06 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.72 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 9/9'-H), 7.59 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 4/4'-H), 7.50 - 7.34 (m, 5H, 14/14'-H + 15/15'-H + 16-H), 5.67 (s, 2H, 12-H ₂), 3.94 (s, 3H, 1-OMe).
¹³C-NMR:	(125 MHz, CDCl ₃ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 166.7 (C1), 147.8 (C11), 144.8 (C7), 143.1 (C6), 137.3 (C8), 134.9 (C5/C13)*, 134.7 (C5/C13)*, 130.5 (C2), 130.2 (2C, C10/10'), 129.1 (2C, C15/15'), 129.0 (2C, C3/3'), 128.8 (C16), 128.5 (2C, C9/9'), 128.4 (2C, C14/14'), 124.1 (2C, C4/4'), 59.4 (C12), 52.4 (-OMe).
HR-MS: (APCI)	Für C ₂₃ H ₁₈ N ₄ O ₄ H (M+H) ⁺ ber.: 415.1401 gef.: 415.1410
Smp.	136.2 °C

6.4.59 Verbindung 4.114

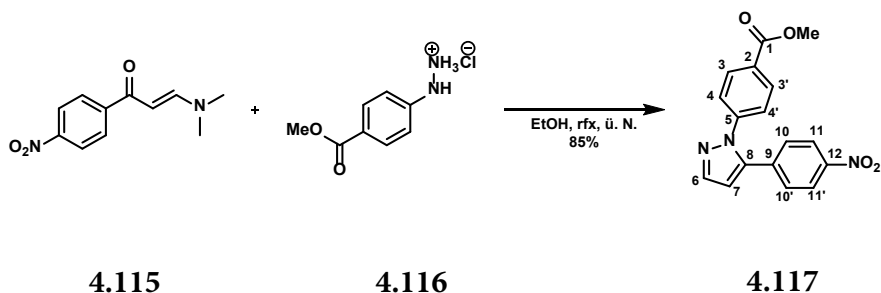


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.108	1.00	0.32	0.10	324.30		
Eisenpulver	10.0	3.20	0.18	55.85		
NH ₄ Cl	0.53	0.17	9 mg	53.49		
EtOH			1.6 mL/mmol			0.51
H ₂ O			2.5 mL/mmol			0.80
35% NaOH (aq.)			0.5 mL/mmol			0.19
THF			6.6 mL/mmol			2.1
MeOH			3.3 mL/mmol			1,1

Eine Suspension von **4.108** (0.10 g, 0.32 mmol, 1.00 äq), Eisenpulver (0.18 g, 3.20 mmol, 10.0 äq) und NH₄Cl (9 mg, 0.17 mmol, 0.53 äq) in EtOH (0.51 mL) und H₂O (0.80 mL) wurde für 2.5 h unter rfx gerührt. Anschließend wurde der Ansatz in MeOH (10 mL) aufgenommen, über Celite filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in THF (2.1 mL) und MeOH (1.1 mL) gelöst, mit 35% NaOH (aq., 0.19 mL) versetzt und ü. N. bei 50 °C gerührt. Am nächsten Tag wurde der Ansatz am Rotationsverdampfer eingengt, in H₂O (5 mL) aufgenommen, mit 4 M HCl (aq.) ein pH von 2-3 eingestellt und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mittels präparativer HPLC (5-95% MeCN in H₂O über 1 h) gereinigt, dabei wurden 34 mg (0.12 mmol, 32%) des Produktes **4.114** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 15.17 (s(b), 1H, Triazol-NH), 12.69 (s(b), 1H, 1-OOH), 7.95 (d, ³ J = 8.4 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.67 (d, ³ J = 8.0 Hz, 2H, 4/4'-H), 7.14 (d, ³ J = 8.4 Hz, 2H, 9/9'-H), 6.61 (d, ³ J = 8.4 Hz, 2H, 10/10'-H), 5.50 (s(b), 2H, 11-NH ₂).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); Signale für C6 und C8 fehlen, zu stark verbreitert oder überlagert von anderen Signalen; * = schwache Signalintensität oder Signal stark verbreitert δ (ppm) = 167.0 (C1), 149.4 (C11), 139.8 (C7)*, 135.9 (C5)*, 129.8 (C2), 129.6 (2C, C3/3'), 129.0 (2C, C4/4'), 127.2 (2C, C9/9'), 113.8 (2C, C10/10').
HR-MS:	Für C ₁₅ H ₁₁ N ₄ O ₂ (M-H) ⁻ ber.: 279.0887 gef.: 279.0888
EA:	Für C ₁₅ H ₁₂ N ₄ O ₂ x 0.25 H ₂ O ber./gef. (%) N: 19.67 / 19.66 C: 63.26 / 63.56 H: 4.42 / 4.32
Smp.	104.1 °C

6.4.6o Verbindung 4.117

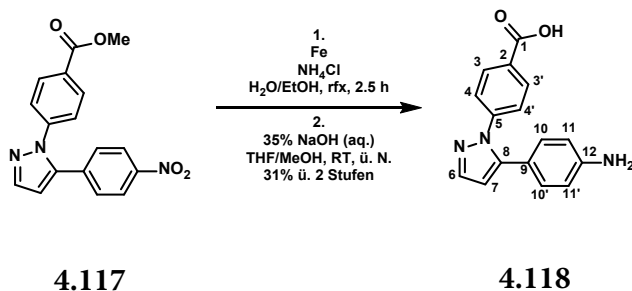


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.115	1.00	2.00	0.44	220.23		
4.116	1.00	2.00	0.40	202.64		
EtOH			2 mL/mmol			4

Eine Suspension von 1-(4-Nitrophenyl)-3-dimethylamino-prop-2-en-1-on (**4.115**, 0.44 g, 2.00 mmol, 1.00 äq) und Methyl-4-hydrazinylbenzoat x HCl (**4.116**, 0.40 g, 2.00 mmol, 1.00 äq) in EtOH (4 mL) wurde ü. N. unter rfx gerührt. Am nächsten Tag wurde der Ansatz in EtOAc (30 mL) aufgenommen, mit sat. NH_4Cl (aq., 2 x 20 mL) gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde aus EtOH/ H_2O (20:1) umkristallisiert, dabei wurden 0.55 g (1.70 mmol, 85%) des Produktes **4.117** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 8.22 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 11/11'-H), 8.00 (d, ³ J = 8.9 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.91 (d, ³ J = 2.0 Hz, 1H, 6-H), 7.53 (d, ³ J = 9.2 Hz, 2H, 10/10'-H), 7.44 (d, ³ J = 8.6 Hz, 2H, 4/4'-H), 6.91 (d, ³ J = 2.0 Hz, 1H, 7-H), 3.86 (s, 3H, 1-OMe).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 165.4 (C1), 147.0 (C12), 142.8 (C5), 141.3 (C6), 140.7 (C9), 136.0 (C8), 130.3 (2C, C11/11'), 129.6 (2C, C3/3'), 128.7 (C2), 125.0 (2C, C10/10'), 123.8 (2C, C4/4'), 110.2 (C7), 52.3 (-OMe).
HR-MS:	Für C ₁₇ H ₁₃ N ₃ O ₄ H (M+H) ⁺ ber.: 324.0979 gef.: 324.0977
EA:	Für C ₁₇ H ₁₃ N ₃ O ₄ ber./gef. (%) N: 13.00 / 12.99 C: 63.16 / 63.19 H: 4.05 / 3.94
Smp.	156.0 °C

6.4.61 Verbindung 4.118

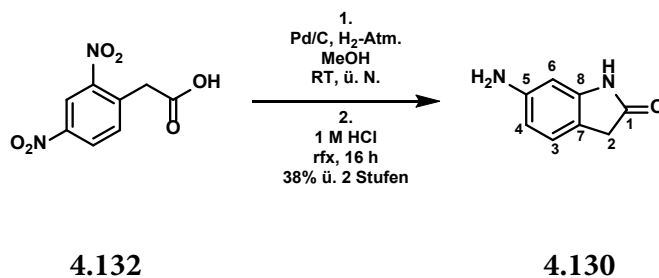


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.117	1.00	1.24	0.40	323.31		
Eisenpulver	10.0	12.4	0.69	55.85		
NH ₄ Cl	0.53	0.66	35 mg	53.49		
EtOH			1.6 mL/mmol			2.0
H ₂ O			2.5 mL/mmol			3.1
35% NaOH (aq.)			0.5 mL/mmol			0.6
THF			6.6 mL/mmol			8.2
MeOH			3.3 mL/mmol			4.1

Eine Suspension von **4.117** (0.40 g, 1.24 mmol, 1.00 äq), Eisenpulver (0.69 g, 12.4 mmol, 10.0 äq) und NH₄Cl (35 mg, 0.66 mmol, 0.53 äq) in EtOH (2.0 mL) und H₂O (3.1 mL) wurde für 2.5 h unter rfx gerührt. Anschließend wurde der Ansatz in MeOH (30 mL) aufgenommen, über Celite filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in THF (8.2 mL) und MeOH (4.1 mL) gelöst, mit 35% NaOH (aq., 0.6 mL) versetzt und ü. N. bei RT gerührt. Am nächsten Tag wurde der Ansatz am Rotationsverdampfer eingeeengt, in H₂O (5 mL) aufgenommen und mit 4 M HCl (aq.) ein pH von 2-3 eingestellt. Die wässrige Phase wurde mit EtOAc (3 x 10 mL) extrahiert, die vereinigte organische Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mittels präparativer HPLC (5-95% MeCN in H₂O über 1 h) gereinigt, dabei wurden 0.11 g (0.39 mmol, 31%) des Produktes **4.118** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); 1-OOH aufgrund starker Verbreiterung nicht bestimmbar δ (ppm) = 7.94 (d, 3J = 8.7 Hz, 2H, 3/3'-H), 7.72 (d, 3J = 1.8 Hz, 1H, 6-H), 7.38 (d, 3J = 8.7 Hz, 2H, 4/4'-H), 6.88 (d, 3J = 8.7 Hz, 2H, 10/10'-H), 6.52 (d, 3J = 8.7 Hz, 2H, 11/11'-H), 6.47 (d, 3J = 1.6 Hz, 1H, 7-H), 5.50 (s(b), 2H, 12-NH ₂).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 166.6 (C1), 149.1 (C12), 143.8 (C5/C8)*, 143.5 (C5/C8)*, 140.7 (C6), 130.0 (2C, C3/3'), 129.3 (2C, C10/10'), 129.0 (C2), 124.4 (2C, C4/4'), 116.6 (C9), 113.6 (2C, C11/11'), 107.3 (C7).
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₁₂ N ₃ O ₂ (M-H) ⁺ ber.: 278.0935 gef.: 278.0935
EA:	Für C ₁₆ H ₁₃ N ₃ O ₂ x 1.5 H ₂ O ber./gef. (%) N: 13.72 / 13.58 C: 62.74 / 62.93 H: 5.26 / 4.84
Smp.	188.8 °C

6.4.62 Verbindung 4.130

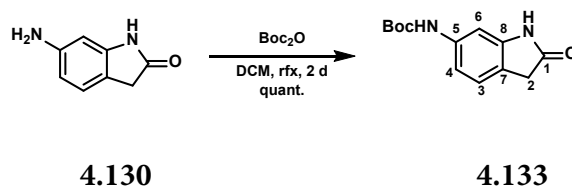


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
2,4-Dinitrophenyl- essigsäure	1.00	20.0	4.52	226.14		
Pd/C (10% Pd)	1.5 mol%	0.30	0.32	106.42		
MeOH			11.3 mL/mmol			226
1 M HCl (aq.)			3.0 mL/mmol			60

2,4-Dinitrophenylessigsäure (**4.132**, 4.52 g, 20.0 mmol, 1.00 äq) wurde in MeOH (226 mL) gelöst, mit Pd/C (10% Pd, 0.32 g, 0.30 mmol, 1.5 mol%) versetzt und ü. N. bei RT unter H₂-Atmosphäre gerührt. Anschließend wurde der Ansatz über Celite filtriert, mit MeOH (100 mL) nachgespült und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in 1 M HCl (aq., 60 mL) gelöst und für 16 h unter rfx gerührt, nach dem Abkühlen wurde die Reaktionslösung mit 1 M NaOH (aq.) auf einen pH von ca. 10 eingestellt, mit H₂O (400 mL) verdünnt und mit EtOAc (3 x 200 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde mit Brine (150 mL) gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-10% MeOH in DCM über 40 min) gereinigt, dabei wurden 1.12 g (7.56 mmol, 38%) des Produktes **4.130** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 10.06 (s, 1H, 1-NH), 6.80 (d, ³ J = 8.0 Hz, 1H, 3-H), 6.13 - 6.11 (m, 2H, 4-H + 6-H), 4.98 (s, 2H, 5-NH ₂), 3.24 (s, 2H, 2-H ₂).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 177.2 (C1), 148.4 (C5), 144.3 (C8), 124.4 (C3), 112.0 (C7), 106.6 (C6), 96.0 (C4), 35.1 (C2).
HR-MS:	Für C ₈ H ₈ N ₂ OH (M+H) ⁺ ber.: 149.0709 gef.: 149.0708
EA:	Für C ₈ H ₈ N ₂ O ber./gef. (%) N: 18.91 / 18.83 C: 64.85 / 64.89 H: 5.44 / 5.48
Smp.	Zersetzung bei > 205 °C

6.4.63 Verbindung 4.133

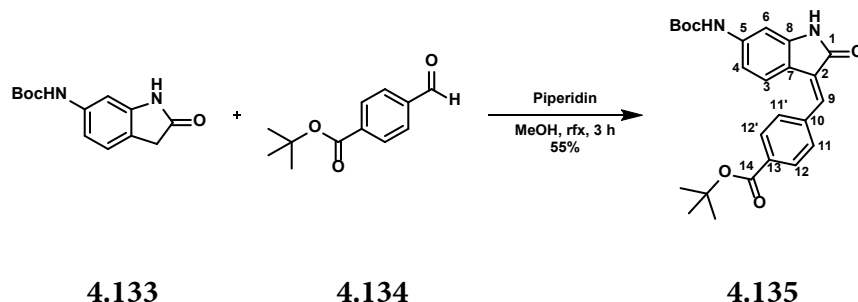


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.130	1.00	1.35	0.20	148.17		
Boc ₂ O	2 x 1.00	2 x 1.35	2 x 0.29	218.25		
DCM			8 mL/mmol			10.8

Eine Suspension von 6-Aminoindolin-(3*H*)-2-on (**4.130**, 0.20 g, 1.35 mmol, 1.00 äq) in DCM (8 mL) wurde bei RT tropfenweise mit einer Lösung von Boc₂O (0.29 g, 1.35 mmol, 1.00 äq) in DCM (2.8 mL) versetzt und für 24 h unter rfx gerührt. Anschließend wurde alle 24 h erneut Boc₂O (0.29 g, 1.35 mmol, 1.00 äq) zugegeben, bis kein Edukt mehr vorhanden war (bestimmt per DC, CH/EtOAc (1:1)). Daraufhin wurde der Ansatz in DCM aufgenommen und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (25-75% EtOAc in CH über 40 min) gereinigt, dabei wurden 0.34 g (1.36 mmol, quant.) des Produktes **4.133** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 10.27 (s, 1H, 1-NH), 9.27 (s, 1H, 5-NH), 7.16 (s, 1H, 6-H), 7.03 (d, ³ J = 8.0 Hz, 1H, 3-H), 6.91 (dd, ³ J = 8.0 Hz, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 4-H), 3.36 (s, 2H, 2-H ₂), 1.47 (s, 9H, Boc).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 176.7 (C1), 152.7 (CO _{Boc}), 143.9 (C8), 139.0 (C5), 124.2 (C3), 118.8 (C7), 110.7 (C4), 99.9 (C6), 78.9 (C _q Boc), 35.2 (C2), 28.1 (3C, CH ₃ Boc).
HR-MS:	Für C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₃ Na (M+Na) ⁺ ber.: 271.1053 gef.: 271.1054
EA:	Für C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₃ ber./gef. (%) N: 11.28 / 10.93 C: 62.89 / 62.45 H: 6.50 / 6.52
Smp.	Zersetzung bei > 225 °C

6.4.64 Verbindung 4.135

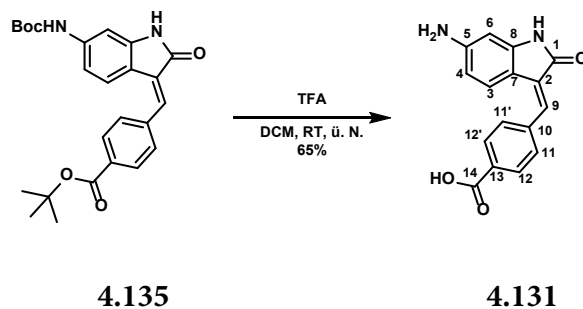


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
4.133	1.00	1.61	0.40	248.28		
<i>tert</i> -Butyl-4-formyl-benzoat	1.20	1.93	0.40	206.24		
Piperidin	1.20	1.93	0.16	85.15	0.86	0.19
MeOH			10 mL/mmol			16

Eine Lösung von **4.133** (0.40 g, 1.61 mmol, 1.00 äq) und *tert*-Butyl-4-formylbenzoat (**4.134**, 0.40 g, 1.93 mmol, 1.20 äq) in MeOH (16 mL) wurde mit Piperidin (0.19 mL, 1.93 mmol, 1.20 äq) versetzt und für 3 h unter rfx gerührt. Nach dem Abkühlen wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in EtOAc (50 mL) aufgenommen und mit 0.5 M HCl (aq., 30 mL) sowie Brine (30 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, anschließend wurde der Rückstand an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (5-40% EtOAc in CH über 45 min) gereinigt, wobei 0.39 g (0.88 mmol, 55%) des Produktes **4.135** (*E*-Isomer, bestimmt mittels ¹H-NMR-Spektroskopie) als gelber Feststoff erhalten wurden.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 10.56 (s, 1H, 1-NH), 9.57 (s, 1H, 5-NH), 8.00 (d, ³ J = 8.2 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.78 (d, ³ J = 8.2 Hz, 2H, 11/11'-H), 7.44 (s, 1H, 9-H), 7.39 (d, ³ J = 8.5 Hz, 1H, 3-H), 7.29 (d, ⁴ J = 1.6 Hz, 1H, 6-H), 6.82 (dd, ³ J = 8.5 Hz, ⁴ J = 1.8 Hz, 1H, 4-H), 1.57 (s, 9H, -OtBu), 1.47 (s, 9H, Boc).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 168.9 (C1), 164.4 (C14), 152.5 (CO _{Boc}), 144.2 (C8), 141.9 (C10), 139.2 (C5), 131.4 (C13), 131.0 (C9), 129.3 (4C, C11/11' + C12/12'), 128.7 (C2), 123.3 (C3), 114.3 (C7), 110.5 (C4), 99.9 (C6), 80.9 (C _q OtBu), 79.4 (C _q Boc), 28.0 (3C, CH ₃ OtBu), 27.7 (3C, CH ₃ Boc).
HR-MS:	Für C ₂₅ H ₂₈ N ₂ O ₅ H (M+H) ⁺ ber.: 437.2071 gef.: 437.2081
EA:	Für C ₂₅ H ₂₈ N ₂ O ₅ ber./gef. (%) N: 6.42 / 6.14 C: 68.79 / 68.68 H: 6.47 / 6.72
Smp.	230.0 °C

6.4.65 Verbindung 4.131

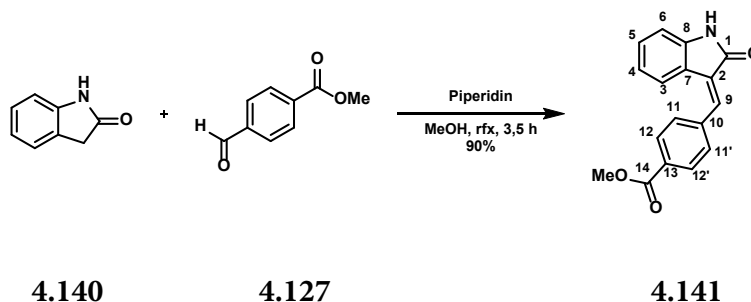


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.135	1.00	0.23	0.10	436.51		
TFA	15.0	3.44	0.39	114.02	1.48	0.26
DCM			15 mL/mmol			3.5

Eine Lösung von **4.135** (0.10 g, 0.23 mmol, 1.00 äq) in DCM (3.5 mL) wurde mit TFA (0.26 mL, 3.44 mmol, 15.0 äq) versetzt und ü. N. bei RT gerührt. Anschließend wurde der entstandene gelbe Niederschlag abfiltriert und mittels präparativer HPLC (Standard-Programm, 5-95% MeCN in H₂O über 1 h) gereinigt, dabei wurden 42 mg (0.15 mmol, 65%) des Produktes **4.131** (*E*-Isomer, bestimmt mittels ¹H-NMR-Spektroskopie) als roter Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 12.97 (s(b), 1H, 14-OOH), 10.32 (s, 1H, 1-NH), 8.01 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.73 (d, ³ J = 8.0 Hz, 2H, 11/11'-H), 7.27 (d, ³ J = 8.6 Hz, 1H, 3-H), 7.17 (s, 1H, 9-H), 6.15 (d, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 6-H), 6.06 (dd, ³ J = 8.6 Hz, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 4-H), 5.86 (s(b), 2H, 5-NH ₂).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 169.7 (C1), 166.8 (C14), 151.2 (C5), 145.1 (C8), 140.0 (C10), 130.2 (C2/C13)*, 129.5 (2C, C12/12'), 129.2 (C2/C13)*, 129.1 (2C, C11/11'), 126.1 (C9), 124.1 (C3), 108.6 (C7), 106.7 (C4), 95.7 (C6).
HR-MS: (APCI)	Für C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O ₃ (M) ⁺ ber.: 280.0853 gef.: 280.0862
EA:	Für C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O ₃ x 0.5 H ₂ O ber./gef. (%) N: 9.68 / 9.68 C: 66.43 / 66.54 H: 4.53 / 4.29
Smp.	Zersetzung bei > 250 °C

6.4.66 Verbindung 4.141

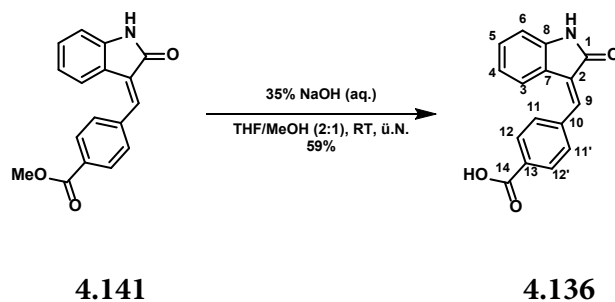


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
Indolin-2-on	1.00	4.00	0.53	133.15		
Methyl-4-formyl- benzoat	1.10	4.40	0.66	164.16		
Piperidin	0.40	1.60	0.14	85.15	0.93	0.15
MeOH			2.3 mL/mmol			9.2

Eine Lösung von Indolin-2-on (**4.140**, 0.53 g, 4.00 mmol, 1.00 äq) und Methyl-4-formylbenzoat (**4.127**, 0.66 g, 4.40 mmol, 1.10 äq) in MeOH (9.2 mL) wurde mit Piperidin (0.15 mL, 1.60 mmol, 0.40 äq) versetzt und für 3.5 h unter rfx gerührt. Anschließend wurde der entstandene Niederschlag abfiltriert, mit MeOH (2 x 5 mL) gewaschen und im Vakuum getrocknet. Dabei wurden 1.01 g (3.61 mmol, 90%) des *E*-Produktes **4.141** als gelber Feststoff erhalten. Bei der Vorbereitung der Probe für das NMR wurde diese kurz erwärmt, um eine ausreichende Substanzmenge zu lösen. Anschließend konnte ein weiterer Signalsatz in den NMR-Spektren identifiziert werden, welcher dem *Z*-Isomer zuzuordnen ist (Verhältnis *E/Z* = 1/0.3). Die Messung eines geringer konzentrierten ¹H-NMR-Spektrums ohne Erwärmen der Probe ergab jedoch, dass das Produkt offenbar ausschließlich als *E*-Isomer erhalten wird.

¹H-NMR:	<p>(400 MHz, DMSO-d₆, 300 K); * = Signale überlagern sich</p> <p>δ (ppm) = 10.63 (s, 2H, 1-NH_{E/Z}), 8.40 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, 12/12'-H_Z), 8.07 (d, ³J = 8.3 Hz, 2H, 12/12'-H_E), 8.00 (d, ³J = 8.3 Hz, 2H, 11/11'-H_Z), 7.84 (s, 1H, 9-H_Z), 7.81 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, 11/11'-H_E), 7.72 (d, ³J = 7.2 Hz, 1H, 3-H_Z), 7.64 (s, 1H, 9-H_E), 7.42 (d, ³J = 7.7 Hz, 1H, 3-H_E), 7.24 (ddd, ³J = 7.7 Hz, ⁴J = 0.9 Hz, 2H, 5-H_{E/Z}), 7.00 (ddd, ³J = 7.6 Hz, ⁴J = 1.0 Hz, 1H, 4-H_Z), 6.88 (d, ³J = 7.7 Hz, 1H, 6-H_E), 6.83 (ddd, ³J = 7.6 Hz, ⁴J = 1.1 Hz, 1H, 4-H_E)*, 6.83 (d, ³J = 7.7 Hz, 1H, 6-H_Z)*, 3.89 (s, 3H, 14-OMe_E), 3.88 (s, 3H, 14-OMe_Z).</p>
¹³C-NMR:	<p>(100 MHz, DMSO-d₆, 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich</p> <p>δ (ppm) = 168.3 (C1_E), 166.8 (C1_Z), 165.8 (C14_Z), 165.7 (C14_E), 143.2 (C8_E), 141.2 (C8_Z), 139.3 (C10_E), 138.3 (C10_Z), 134.7 (C9_Z), 134.0 (C9_E), 131.7 (C11/11'_Z / C12/12'_Z)*, 130.6 (C5_E), 130.2 (C7_Z / C13_Z)*, 130.0 (C7_E / C13_E)*, 129.6 (C5_Z), 129.4 (4C, C11/11'_E + C12/12'_E), 129.2 (C7_E / C13_E)*, 128.9 (C7_Z / C13_Z)*, 128.7 (C11/11'_Z / C12/12'_Z)*, 124.4 (C2_Z), 122.6 (C4_E), 121.2 (C3_E), 121.2 (C4_Z), 120.5 (C2_E), 120.3 (C3_Z), 110.2 (C6_E), 109.5 (C6_Z), 52.2 (-OMe_E), 52.2 (-OMe_Z).</p>
HR-MS:	<p>Für C₁₇H₁₃NO₃H (M+H)⁺</p> <p>ber.: 280.0968</p> <p>gef.: 280.0976</p>
EA:	<p>Für C₁₇H₁₃NO₃ ber./gef. (%)</p> <p>N: 5.02 / 4.98</p> <p>C: 73.11 / 73.08</p> <p>H: 4.69 / 4.73</p>
Smp.	228.8 °C

6.4.67 Verbindung 4.136

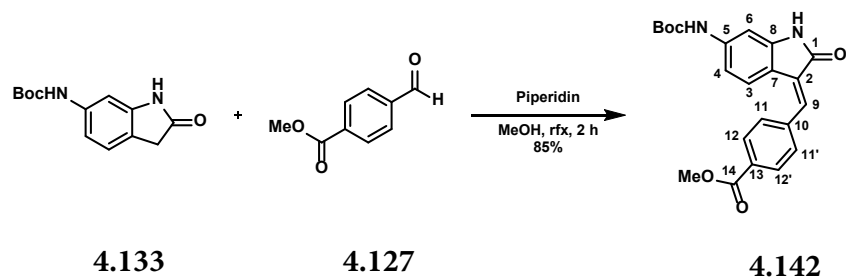


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
4.141	1.00	1.43	0.40	279.30		
35% NaOH (aq.)			1 mL/mmol			1.4
THF/MeOH (2:1)			15 mL/mmol			21

Eine Lösung von **4.141** (0.40 g, 1.43 mmol, 1.00 äq) in THF/MeOH (2:1, 21 mL) wurde mit 35% NaOH (aq., 1.4 mL) versetzt und ü. N. bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in 4 M HCl (aq., 10 mL) aufgenommen. Die wässrige Phase wurde filtriert, der Niederschlag mit H₂O (10 mL) gewaschen und im Vakuum getrocknet, dabei wurden 0.23 g (0.85 mmol, 59%) des *E*-Produktes **4.136** als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(400 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 13.11 (s, 1H, 14-OOH), 10.63 (s, 1H, 1-NH), 8.06 (d, ³ J = 8.2 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.80 (d, ³ J = 8.0 Hz, 2H, 11/11'-H), 7.65 (s, 1H, 9-H), 7.45 (d, ³ J = 7.6 Hz, 1H, 3-H), 7.24 (dd, ³ J = 7.7 Hz, 1H, 5-H), 6.88 (d, ³ J = 7.8 Hz, 1H, 6-H), 6.84 (dd, ³ J = 7.7 Hz, 1H, 4-H).
¹³C-NMR:	(100 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = Eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 168.3 (C1), 166.8 (C14), 143.2 (C8), 138.9 (C10), 134.3 (C9), 131.3 (C13), 130.6 (C5), 129.6 (2C, C12/12'), 129.3 (2C, C11/11'), 129.0 (C7), 122.7 (C3/C4)*, 121.3 (C3/C4)*, 120.6 (C2), 110.2 (C6).
HR-MS: (APCI)	Für C ₁₆ H ₁₁ NO ₃ (M) ⁻ ber.: 265.0744 gef.: 265.0753
EA:	Für C ₁₆ H ₁₁ NO ₃ x 0.5 H ₂ O ber./gef. (%) N: 5.11 / 5.11 C: 70.07 / 70.01 H: 4.41 / 4.22
Smp.	> 300 °C

6.4.68 Verbindung 4.142

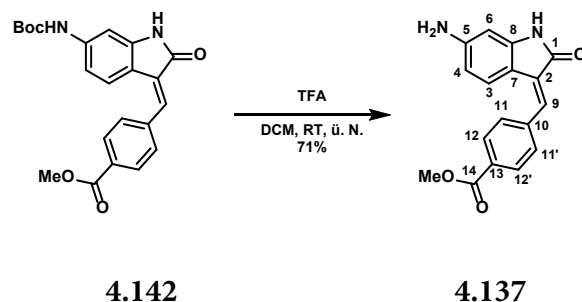


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.133	1.00	1.01	0.25	248.28		
Methyl-4-formyl- benzoat	1.20	1.21	0.20	164.16		
Piperidin	1.20	1.21	0.10	85.15	0.86	0.12
MeOH			10 mL/mmol			10

Eine Lösung von **4.133** (0.25 g, 1.01 mmol, 1.00 äq) und Methyl-4-formylbenzoat (**4.127**, 0.20 g, 1.21 mmol, 1.20 äq) in MeOH (10 mL) wurde mit Piperidin (0.12 mL, 1.21 mmol, 1.20 äq) versetzt und unter rfx für 2 h gerührt. Anschließend wurde der entstandene Niederschlag abfiltriert, mit kaltem MeOH (2 x 5 mL) gewaschen und getrocknet, dabei wurden 0.34 g (0.86 mmol, 85%) des *E*-Produktes **4.142** (bestimmt mittels ^1H -NMR-Spektroskopie) als oranger Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 10.56 (s, 1H, 1-NH), 9.56 (s, 1H, 5-NH), 8.06 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.80 (d, ³ J = 8.0 Hz, 2H, 11/11'-H), 7.45 (s, 1H, 9-H), 7.37 (d, ³ J = 8.3 Hz, 1H, 3-H), 7.29 (d, ⁴ J = 1.7 Hz, 1H, 6-H), 6.83 (dd, ³ J = 8.6 Hz, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 4-H), 3.89 (s, 3H, 14-OMe), 1.47 (s, 9H, Boc).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 168.9 (C1), 165.7 (C14), 152.5 (CO _{Boc}), 144.3 (C8), 141.9 (C5), 139.6 (C10), 130.9 (C9), 129.7 (C2/C13)*, 129.4 (4C, C11/11' + C12/12'), 128.9 (C2/C13)*, 123.3 (C3), 114.2 (C7), 110.5 (C4), 99.9 (C6), 79.4 (C _q Boc), 52.2 (-OMe), 28.0 (3C, CH ₃ Boc).
HR-MS:	Für C ₂₂ H ₂₂ N ₂ O ₅ Na (M+Na) ⁺ ber.: 417.1421 gef.: 417.1425
EA:	Für C ₂₂ H ₂₂ N ₂ O ₅ ber./gef (%) N: 7.10 / 7.09 C: 66.99 / 66.70 H: 5.62 / 5.66
Smp.	244.7 °C

6.4.6g Verbindung 4.137

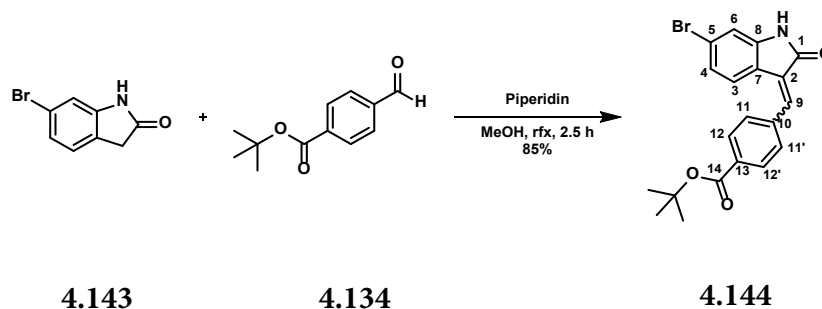


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.142	1.00	0.63	0.25	394.43		
TFA	10.0	6.30	0.72	114.02	1.48	0.48
DCM			10 mL/mmol			6.3

Eine Lösung von **4.142** (0.25 g, 0.63 mmol, 1.00 äq) in DCM (6.3 mL) wurde mit TFA (0.48 mL, 6.30 mmol, 10.0 äq) versetzt und ü. N. bei RT gerührt. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung mit sat. NaHCO₃ (aq., 10 mL) versetzt und für 15 min stark gerührt. Der Ansatz wurde mit DCM (3 x 20 mL) extrahiert, die vereinigte organische Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-5% MeOH in DCM über 30 min) gereinigt, dabei wurden 0.13 g (0.45 mmol, 71%) des Produktes **4.137** (Verhältnis E/Z = 1/0.07, bestimmt mittels ¹H-NMR-Spektroskopie) als roter Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der Protonen wird normiert auf das jeweilige Isomer angegeben</p> <p>δ (ppm) = 10.32 (s, 1H, 1-NH_Z), 10.30 (s, 1H, 1-NH_E), 8.29 (d, ³J = 8.3 Hz, 2H, 12/12'-H_Z), 8.02 (d, ³J = 8.3 Hz, 2H, 12/12'-H_E), 7.93 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, 11/11'-H_Z), 7.75 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, 11/11'-H_E), 7.34 (d, ³J = 8.3 Hz, 1H, 3-H_Z), 7.31 (s, 1H, 9-H_Z), 7.25 (d, ³J = 8.6 Hz, 1H, 3-H_E), 7.15 (s, 1H, 9-H_E), 6.17 (dd, ³J = 8.3 Hz, ⁴J = 2.0 Hz, 1H, 4-H_Z), 6.12 (d, ⁴J = 2.0 Hz, 1H, 6-H_E), 6.09 (d, ⁴J = 1.7 Hz, 1H, 6-H_Z), 6.03 (dd, ³J = 8.5 Hz, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, 4-H_E), 5.76 (s, 2H, 5-NH_{2E}), 5.63 (s, 2H, 5-NH_{2Z}), 3.88 (s, 3H, 14-OMe_E), 3.86 (s, 3H, 14-OMe_Z).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der C-Atome wird normiert auf das jeweilige Isomer angegeben</p> <p>δ (ppm) = 169.7 (C1_E), 168.1 (C1_Z), 165.9 (C14_Z), 165.8 (C14_E), 151.8 (C5_E), 151.2 (C5_Z), 145.2 (C8_E), 142.9 (C8_Z), 140.5 (C10_E), 139.4 (C10_Z), 130.8 (2C, C12/12'_Z), 129.7 (C2_Z), 129.4 (C2_E), 129.3 (2C, C12/12'_E), 129.2 (2C, C11/11'_E), 128.9 (C13_E), 128.7 (C13_Z), 128.6 (2C, C11/11'_Z), 127.4 (C9_Z), 125.5 (C9_E), 124.1 (C3_E), 121.6 (C3_Z), 112.4 (C7_Z), 108.2 (C7_E), 106.9 (C4_Z), 106.4 (C4_E), 95.4 (C6_E), 94.9 (C6_Z), 52.1 (-OMe_E), 52.0 (-OMe_Z).</p>
HR-MS:	<p>Für C₁₇H₁₄N₂O₃H (M+H)⁺ ber. 295.1077 gef.: 295.1085</p>
EA:	<p>Für C₁₇H₁₄N₂O₃ x 0.25 H₂O ber./gef. (%) N: 9.37 / 9.25 C: 68.33 / 68.81 H: 4.89 / 5.02</p>
Smp.	244.6 °C

6.4.70 Verbindung 4.144

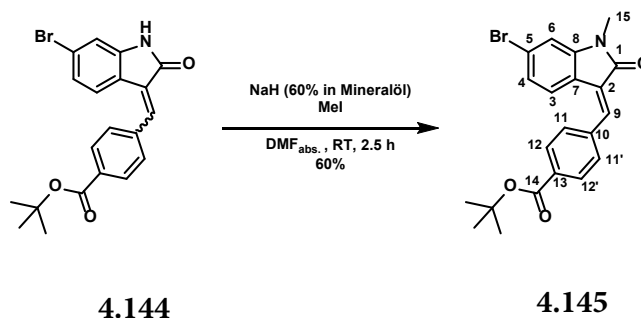


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
6-Bromindolin-2-on	1.00	5.00	1.01	212.05		
<i>tert</i> -Butyl-4-formylbenzoat	1.20	6.00	1.24	206.24		
Piperidin	1.20	6.00	0.51	85.15	0.86	0.59
MeOH			10 mL/mmol			50

Eine Lösung von 6-Bromindolin-2-on (**4.143**, 1.01 g, 5.00 mmol, 1.00 äq) und *tert*-Butyl-4-formylbenzoat (**4.134**, 1.24 g, 6.00 mmol, 1.20 äq) in MeOH (50 mL) wurde mit Piperidin (0.59 mL, 6.00 mmol, 1.20 äq) versetzt und für 2.5 h unter rfx gerührt. Nach dem Abkühlen auf RT wurde der entstandene Niederschlag abfiltriert, mit kaltem MeOH (2 x 10 mL) gewaschen und im Vakuum getrocknet, dabei wurden 1.69 g (4.23 mmol, 85%) des Produktes **4.144** ($E/Z = 1/0.35$, bestimmt mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie) als gelber Feststoff erhalten. Bei der Vorbereitung der Probe für das NMR wurde diese kurz erwärmt, um eine ausreichende Substanzmenge zu lösen. Anschließend konnte ein weiterer Signalsatz in den NMR-Spektren identifiziert werden, welcher dem *Z*-Isomer zuzuordnen ist (Verhältnis $E/Z = 1/0.35$).

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der Protonen wird normiert auf das jeweilige Isomer angegeben, bei Überlagerung normiert auf ein Isomer</p> <p>δ (ppm) = 10.77 (s, 1H, 1-NH_{E/Z}), 8.37 (d, ³J = 8.3 Hz, 2H, 12/12'-H_Z), 8.01 (d, ³J = 8.3 Hz, 2H, 12/12'-H_E), 7.94 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, 11/11'-H_Z), 7.92 (s, 1H, 9-H_Z), 7.78 (d, ³J = 8.0 Hz, 2H, 11/11'-H_E), 7.69 (s, 1H, 9-H_E), 7.68 (d, ³J = 8.3 Hz, 1H, 3-H_Z), 7.37 (d, ³J = 8.0 Hz, 1H, 3-H_E), 7.19 (dd, ³J = 8.2 Hz, ⁴J = 1.9 Hz, 1H, 4-H_Z), 7.05 - 7.02 (m, 2H, 4-H_E + 6-H_E), 6.97 (d, ⁴J = 1.7 Hz, 1H, 6-H_Z), 1.57 (s, 9H, 14-OtBu_E), 1.56 (s, 9H, 14-OtBu_Z).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der C-Atome wird normiert auf das jeweilige Isomer angegeben</p> <p>δ (ppm) = 168.1 (C1_E), 166.6 (C1_Z), 164.4 (C14_Z), 164.3 (C14_E), 144.6 (C8_E), 142.4 (C8_Z), 138.6 (C10_E), 137.7 (C10_Z), 136.1 (C9_Z), 135.2 (C9_E), 132.2 (C13_Z), 131.9 (C13_E), 131.6 (2C, C12/12'_Z), 129.4 (4C, C11/11'_E + C12/12'_E), 128.6 (2C, C11/11'_Z), 128.0 (C7_E), 127.6 (C7_Z), 124.2 (C3_E/C4_E)*, 123.9 (C3_E/C4_E)*, 123.8 (C3_Z), 123.8 (C5_Z), 123.1 (C5_E), 122.1 (C2_Z), 122.0 (C4_Z), 119.8 (C2_E), 112.9 (C6_E), 112.2 (C6_Z), 81.1 (C_q tBu_E), 80.9 (C_q tBu_Z), 27.7 (3C, CH₃ tBu_{E/Z}).</p>
HR-MS:	<p>Für C₂₀H₁₈BrNO₃H (M+H)⁺</p> <p>ber.: 400.0543 / 402.0523</p> <p>gef.: 400.0555 / 402.0534</p>
EA:	<p>Für C₂₀H₁₈BrNO₃ ber./gef. (%)</p> <p>N: 3.50 / 3.52</p> <p>C: 60.01 / 59.89</p> <p>H: 4.53 / 4.62</p>
Smp.	223.7 °C

6.4.71 Verbindung 4.145

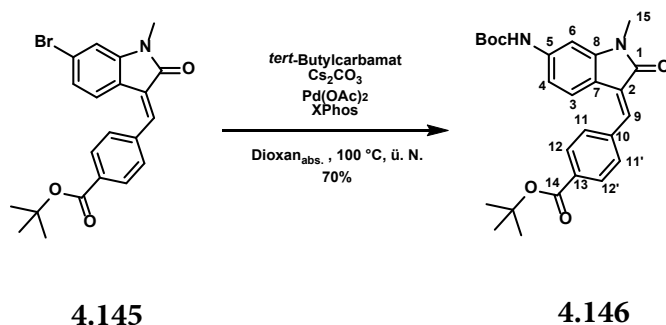


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.144	1.00	1.00	0.40	400.27		
NaH (60% in Mineralöl)	1.20	1.20	0.05	23.99		
MeI	1.35	1.35	0.19	141.94	2.28	84 μ L
DMF _{abs.}			4.2 mL/mmol			4.2

Eine Lösung von **4.144** (0.40 g, 1.00 mmol, 1.00 äq) in DMF_{abs.} (4.2 mL) wurde mit NaH (60% in Mineralöl, 0.05 g, 1.20 mmol, 1.20 äq) versetzt und für 30 min bei RT gerührt, anschließend wurde MeI (84 μ L, 1.35 mmol, 1.35 äq) zugegeben und für weitere 2 h bei RT gerührt. Daraufhin wurde das Reaktionsgemisch in EtOAc (80 mL) aufgenommen, mit 5% LiCl (aq., 3 x 30 mL), H₂O (50 mL) und Brine (50 mL) gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-30% EtOAc in CH über 40 min) gereinigt, dabei wurden 0.25 g (0.60 mmol, 60%) des Produktes **4.145** (*E/Z* = 1/0.42, bestimmt mittels ¹H-NMR) als gelber Feststoff erhalten. Bei der Vorbereitung der Probe für das NMR wurde diese kurz erwärmt, um eine ausreichende Substanzmenge zu lösen. Anschließend konnte ein weiterer Signalsatz in den NMR-Spektren identifiziert werden, welcher dem *Z*-Isomer zuzuordnen ist (Verhältnis *E/Z* = 1/0.42). Die Messung eines geringer konzentrierten ¹H-NMR-Spektrums ohne Erwärmen der Probe ergab jedoch, dass das Produkt offenbar fast ausschließlich als *E*-Isomer erhalten wird.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); Anzahl der Protonen wird normiert auf das jeweilige Isomer angegeben, bei Überlagerung normiert auf ein Isomer δ (ppm) = 8.38 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 12/12'-H _Z), 8.01 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 12/12'-H _E), 7.95 (s, 1H, 9-H _Z), 7.94 (d, ³ J = 8.0 Hz, 2H, 11/11'-H _Z), 7.79 - 7.77 (m, 3H, 9-H _E + 11/11'-H _E), 7.71 (d, ³ J = 8.0 Hz, 1H, 3-H _Z), 7.38 (d, ³ J = 8.0 Hz, 1H, 3-H _E), 7.31 (d, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 6-H _E), 7.27 (d, ⁴ J = 1.7 Hz, 1H, 6-H _Z), 7.25 (dd, ³ J = 8.0 Hz, ⁴ J = 1.7 Hz, 1H, 4-H _Z), 7.10 (dd, ³ J = 8.2 Hz, ⁴ J = 1.9 Hz, 1H, 4-H _E), 3.20 (s, 3H, 15-H _{3E}), 3.19 (s, 3H, 15-H _{3Z}), 1.57 (s, 9H, 14- <i>Ot</i> Bu _E), 1.57 (s, 9H, 14- <i>Ot</i> Bu _Z).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich; Anzahl der C-Atome wird normiert auf das jeweilige Isomer angegeben, bei Überlagerung normiert auf ein Isomer δ (ppm) = 166.8 (C1 _E), 164.9 (C1 _Z), 164.4 (C14 _Z), 164.3 (C14 _E), 145.7 (C8 _E), 143.6 (C8 _Z), 138.5 (C10 _E), 137.6 (C10 _Z), 136.3 (C9 _Z), 135.7 (C9 _E), 132.3 (C13 _Z), 132.0 (C13 _E), 131.7 (2C, C12/12' _Z), 129.4 (2C, C12/12' _E), 129.4 (2C, C11/11' _E), 128.6 (2C, C11/11' _Z), 127.1 (C7 _E), 126.6 (C7 _Z), 124.4 (C3 _E), 124.3 (C3 _Z), 123.7 (C4 _E), 123.4 (C5 _E), 122.7 (C2 _Z /C5 _Z)*, 122.4 (C2 _Z /C5 _Z)*, 121.5 (C4 _Z), 119.1 (C2 _E), 112.1 (C6 _E), 111.6 (C6 _Z), 81.1 (C _q <i>t</i> Bu _E), 81.0 (C _q <i>t</i> Bu _Z), 27.7 (3C, CH ₃ <i>t</i> Bu _{E/Z}), 26.2 (C15 _E), 16.0 (C15 _Z).
HR-MS: (APCI)	Für C ₂₁ H ₂₀ BrNO ₃ H (M+H) ⁺ ber.: 414.0710 / 416.0692 gef.: 414.0709 / 416.0689
Smp.	153.6 °C

6.4.72 Verbindung 4.146

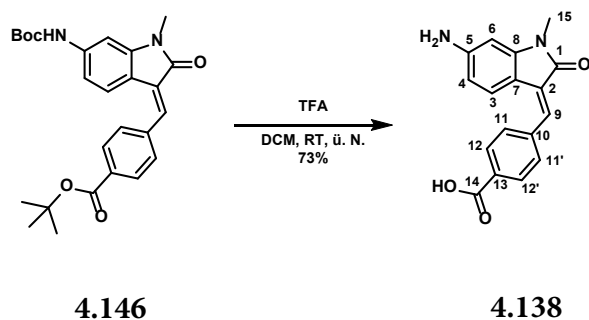


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.145	1.00	1.00	0.41	414.30		
<i>tert</i> -Butylcarbamat	1.40	1.40	0.16	117.15		
Cs ₂ CO ₃	1.60	1.60	0.52	325.82		
Pd(OAc) ₂	5 mol%	0.05	11 mg	224.51		
XPhos	15 mol%	0.15	0.07	476.73		
Dioxan _{abs.}			8 mL/mmol			8

In einem ausgeheizten Schlenkkolben wurde unter Argon-Atm. Cs₂CO₃ (0.52 g, 1.60 mmol, 1.60 äq) vorgelegt und der Kolben nochmals ausgeheizt. Anschließend wurden im Argon-Gegenstrom **4.145** (0.41 g, 1.00 mmol, 1.00 äq), *tert*-Butylcarbamat (0.16 g, 1.40 mmol, 1.40 äq), Pd(OAc)₂ (11 mg, 0.05 mmol, 5 mol%) und XPhos (0.07 g, 0.15 mmol, 15 mol%) zugegeben und der Kolben für 10 min evakuiert. Danach wurde dem Ansatz unter Argon Dioxan_{abs.} (8 mL) zugefügt und bei 100 °C ü. N. gerührt. Am nächsten Tag wurde der Ansatz in EtOAc (60 mL) aufgenommen, mit sat. NH₄Cl (aq., 30 mL) und Brine (30 mL) gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-30% EtOAc in CH₂ über 40 min) gereinigt, dabei wurden 0.32 g (0.70 mmol, 70%) des *E*-Produktes **4.146** (bestimmt mittels ¹H-NMR-Spektroskopie) als oranger Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, CDCl ₃ , 300 K); δ (ppm) = 8.05 (d, ³ J = 8.0 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.70 (s, 1H, 9-H), 7.65 (d, ³ J = 8.0 Hz, 2H, 11/11'-H), 7.43 (d, ³ J = 8.0 Hz, 1H, 3-H), 7.38 (s, 1H, 5-NH), 6.68 (s, 1H, 6-H), 6.48 (dd, ³ J = 8.3 Hz, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 4-H), 3.28 (s, 3H, 15-H ₃), 1.62 (s, 9H, Boc), 1.52 (s, 9H, 14- <i>Ot</i> Bu).
¹³C-NMR:	(125 MHz, CDCl ₃ , 300 K); δ (ppm) = 168.9 (C1), 165.4 (C14), 152.5 (CO _{Boc}), 145.9 (C8), 140.8 (C5), 139.5 (C10), 133.5 (C9), 132.5 (C13), 129.8 (2C, C12/12'), 129.2 (2C, C11/11'), 128.2 (C2), 123.6 (C3), 115.5 (C7), 111.0 (C4), 99.0 (C6), 81.5 (C _q Boc), 81.2 (C _q <i>Ot</i> Bu), 28.4 (3C, CH ₃ Boc), 28.3 (3C, CH ₃ <i>Ot</i> Bu), 26.4 (C15).
HR-MS:	Für C ₂₆ H ₃₀ N ₂ O ₅ H (M+H) ⁺ ber.: 451.2227 gef.: 451.2222
Smp.	194.8 °C

6.4.73 Verbindung 4.138

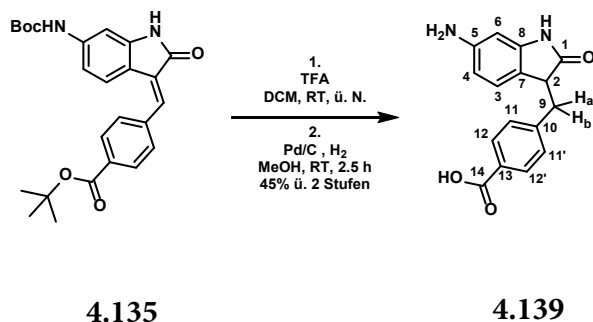


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.146	1.00	0.44	0.20	450.54		
TFA	15.0	6.60	0.75	114.02	1.48	0.51
DCM			15 mL/mmol			6.6

Eine Lösung von **4.146** (0.20 g, 0.44 mmol, 1.00 äq) in DCM (6.6 mL) wurde mit TFA (0.51 mL, 6.60 mmol, 15.0 äq) versetzt und ü. N. bei RT gerührt. Am nächsten Tag wurde der Ansatz mit H₂O (10 mL) versetzt und unter starkem Rühren mit sat. NaHCO₃ (aq.) der pH auf 2-3 eingestellt. Der Ansatz wurde mit EtOAc (3 x 25 mL) extrahiert und die vereinigte organische Phase über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt an Silicagel adsorbiert und mittels MPLC (0-15% MeOH in DCM über 30 min) gereinigt, dabei wurden 95 mg (0.32 mmol, 73%) des *E*-Produktes **4.138** (bestimmt mittels ¹H-NMR-Spektroskopie) als roter Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); Der Signalsatz des Z-Isomers ist mit so schwacher Intensität vorhanden, dass kein Isomerenverhältnis bestimmt werden kann. Das Produkt wurde als reines <i>E</i> -Isomer ausgewertet. δ (ppm) = 13.01 (s(b), 1H, 14-OOH), 8.01 (d, ³ J = 8.3 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.74 /d, ³ J = 8.0 Hz, 2H, 11/11'-H), 7.29 (d, ³ J = 8.3 Hz, 1H, 3-H), 7.26 (s, 1H, 9-H), 6.20 (d, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 6-H), 6.10 (dd, ³ J = 8.3 Hz, ⁴ J = 2.0 Hz, 1H, 4-H), 5.82 (s(b), 2H, 5-NH ₂), 3.12 (s, 3H, 15-H ₃).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 168.3 (C1), 166.8 (C14), 151.8 (C5), 146.3 (C8), 139.9 (C10), 130.4 (C13), 129.5 (2C, C12/12'), 129.1 (2C, C11/11'), 128.2 (C2), 126.6 (C9), 123.9 (C3), 107.4 (C7), 106.5 (C4), 94.4 (C6), 25.7 (C15).
HR-MS:	Für C ₁₇ H ₁₃ N ₂ O ₃ (M-H) ⁻ ber.: 293.0932 gef.: 293.0937
EA:	Für C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O ₃ x 0.25 H ₂ O ber./gef. (%) N: 9.37 / 9.57 C: 68.33 / 68.67 H: 4.89 / 4.86
Smp.	Zersetzung bei > 270 °C

6.4.74 Verbindung 4.139

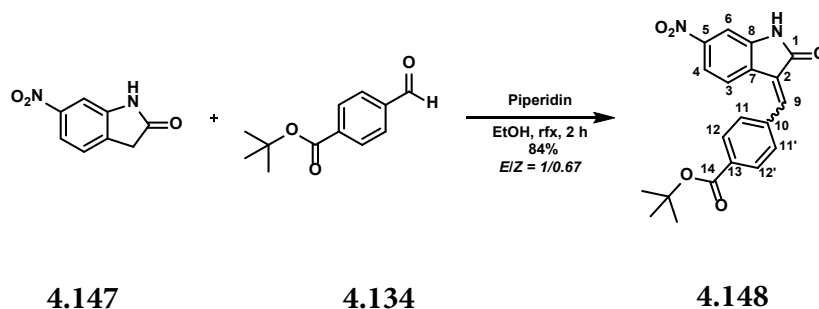


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ[g/mL]	V [mL]
4.135	1.00	0.46	0.20	436.51		
TFA	15.0	6.87	0.78	114.02	1.48	0.53
DCM			15 mL/mmol			6.9
Pd/C (10% Pd)	10 mol%	0.05	0.05	106.42		
MeoH			10 mL/mmol			4.6

Eine Lösung von **4.135** (0.20 g, 0.46 mmol, 1.00 äq) in DCM (6.9 mL) wurde mit TFA (0.53 mL, 6.87 mmol, 15.0 äq) versetzt und bei RT ü. N. gerührt. Daraufhin wurde der Ansatz mit CH (15 mL) verdünnt und der entstandene gelbe Niederschlag abfiltriert. Der Feststoff wurde getrocknet und anschließend in MeOH (4.6 mL) gelöst, dann wurde dem Ansatz Pd/C (10% Pd, 0.05 g, 0.05 mmol, 10 mol%) zugefügt und für 2.5 h unter H₂-Atm. bei RT gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung über Celite filtriert, mit MeOH (2 x 15 mL) nachgespült und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels präparativer HPLC (Standard-Programm, 5-95% MeCN in H₂O über 1 h) gereinigt, dabei wurden 61 mg (0.22 mmol, 48% ü. 2 Stufen) des Produktes **4.139** als farbloser Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	(500 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); δ (ppm) = 10.03 (s, 1H, 1-NH), 7.78 (d, ³ J = 8.0 Hz, 2H, 12/12'-H), 7.24 (d, ³ J = 8.0 Hz, 2H, 11/11'-H), 6.48 (d, ³ J = 8.5 Hz, 1H, 3-H), 6.02 - 6.01 (m, 2H, 4-H + 6-H), 3.62 (dd, ³ J = 7.6, 5.3 Hz, 1H, 2-H), 3.26 (dd, ² J = 13.7 Hz, ³ J = 5.0 Hz, 1H, 9-H _a), 2.92 (dd, ² J = 13.7 Hz, ³ J = 7.8 Hz, 1H, 9-H _b).
¹³C-NMR:	(125 MHz, DMSO-d ₆ , 300 K); * = eindeutige Zuordnung nicht möglich δ (ppm) = 178.7 (C1), 167.2 (C14), 148.6 (C5), 143.9 (C8/C10)*, 143.2 (C8/C10)*, 129.5 (2C, C12/12'), 128.9 (2C, C11/11'), 128.8 (C13), 124.5 (C3), 115.2 (C7), 106.5 (C4), 95.9 (C6), 45.7 (C2), 35.9 (C9).
HR-MS:	Für C ₁₆ H ₁₄ N ₂ O ₃ Na (M+Na) ⁺ ber.: 305.0897 gef.: 305.0904
EA:	Für C ₁₆ H ₁₄ N ₂ O ₃ x 1 H ₂ O ber./gef. (%) N: 9.33 / 9.33 C: 63.99 / 63.67 H: 5.37 / 5.36
Smp.	147.4 °C

6.4.75 Verbindung 4.148

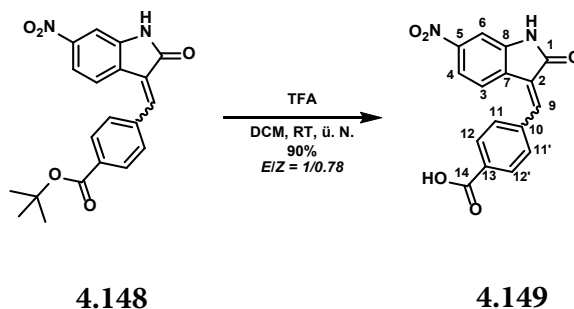


	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
6-Nitroindolin-2-on	1.00	3.00	0.53	178.15		
<i>tert</i> -Butyl-4-formylbenzoat	1.20	3.60	0.74	206.24		
Piperidin	1.20	3.60	0.31	85.15	0.86	0.36
EtOH			10 mL/mmol			30

Zu einer Lösung von 6-Nitroindolin-2-on (**4.147**, 0.53 g, 3.00 mmol, 1.00 äq) und *tert*-Butyl-4-formylbenzoat (**4.134**, 0.74 g, 3.60 mmol, 1.20 äq) in EtOH (30 mL) wurde tropfenweise Piperidin (0.36 mL, 3.60 mmol, 1.20 äq) gegeben und die Reaktionslösung anschließend für 2 h unter Rfx gerührt. Nach dem Abkühlen wurde der entstandene Niederschlag abfiltriert, mit kaltem EtOH (2 x 10 mL) gewaschen und im Vakuum getrocknet, dabei wurden 0.93 g (2.53 mmol, 84%) des Produktes **4.148** ($E/Z = 1/0.67$, bestimmt mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie) als gelber Feststoff erhalten.

¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der Protonen wird normiert auf das jeweilige Isomer angegeben, bei Überlagerung normiert auf ein Isomer.</p> <p>δ (ppm) = 11.03 (s, 1H, 1-NH_{E/Z}), 8.42 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, 12/12'-H_Z), 8.13 (s, 1H, 9-H_Z), 8.03 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, 12/12'-H_E), 7.97 (d, ³J = 8.5 Hz, 1H, 3-H_Z), 7.96 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, 11/11'-H_Z), 7.90 - 7.88 (m, 2H, 4-H_Z + 9-H_E), 7.82 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 11/11'-H_E), 7.73 (dd, ³J = 8.5 Hz, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, 4-H_E), 7.63 (d, ³J = 8.5 Hz, 1H, 3-H_E), 7.55 (d, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, 6-H_E), 7.51 (d, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, 6-H_Z), 1.57 (s, 9H, -OtBu_E), 1.57 (s, 9H, -OtBu_Z).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der C-Atome wird normiert auf das jeweilige Isomer angegeben, bei Überlagerung normiert auf ein Isomer. Die Zuordnung der Signale zum jeweiligen Isomer erfolgte auf Grundlage der Signalintensitäten.</p> <p>δ (ppm) = 167.9 (C1_E), 166.4 (C1_Z), 164.3 (C14_Z), 164.2 (C14_E), 148.0 (C5_E), 147.7 (C5_Z), 143.8 (C8_E), 141.4 (C8_Z), 140.2 (C9_Z), 139.3 (C9_E), 138.0 (C10_E), 137.2 (C10_Z), 132.9 (C7_Z), 132.5 (C7_E), 132.2 (2C, C12/12'_Z), 131.1 (C2_Z), 129.6 (2C, C12/12'_E), 129.4 (2C, C11/11'_E), 128.7 (2C, C11/11'_Z), 127.3 (C2_E), 126.8 (C13_Z), 126.7 (C13_E), 123.2 (C3_E), 120.8 (C3_Z), 116.8 (C4_E), 116.8 (C4_Z), 104.4 (C6_E), 103.9 (C6_Z), 81.2 (C_q OtBu_E), 81.1 (C_q OtBu_Z), 27.7 (3C, CH₃ OtBu_{E/Z}).</p>
HR-MS:	<p>Für C₂₀H₁₈N₂O₅Na (M+Na)⁺ ber.: 389.1119 gef.: 389.1107</p>
Smp.	Zersetzung bei > 280 °C.

6.4.76 Verbindung 4.149



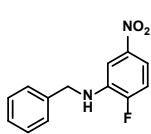
	äq	n [mmol]	m [g]	M [g/mol]	ρ [g/mL]	V [mL]
4.148	1.00	1.36	0.50	366.37		
TFA	10.0	13.6	1.55	114.02	1.48	1.1
DCM			15 mL/mmol			20

Eine Lösung von **4.148** (0.50 g, 1.36 mmol, 1.00 äq) in DCM (20 mL) wurde mit TFA (1.1 mL, 13.6 mmol, 10.0 äq) versetzt und ü. N. bei RT gerührt. Am nächsten Tag wurde das Reaktionsgemisch mit H₂O (10 mL) sowie 4 M HCl (aq., 20 mL) versetzt und mit EtOAc (4 x 50 mL) extrahiert, die vereinigte organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mit MeOH und CH gewaschen und der verbleibende Feststoff im Vakuum getrocknet, dabei wurden 0.38 g (1.23 mmol, 90%) des Produktes **4.149** (E/Z = 1/0.78, bestimmt mittels ¹H-NMR-Spektroskopie) als gelber Feststoff erhalten.

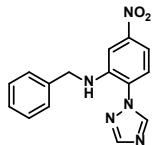
¹H-NMR:	<p>(500 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der Protonen wird normiert auf das jeweilige Isomer angegeben, bei Überlagerung normiert auf ein Isomer.</p> <p>δ (ppm) = 13.12 (s, 1H, 14-OOH_{E/Z}), 11.05 (s, 1H, 1-NH_E), 11.03 (s, 1H, 1-NH_Z), 8.44 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, 12/12'-H_Z), 8.14 (s, 1H, 9-H_Z), 8.08 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 12/12'-H_E), 8.01 (d, ³J = 8.5 Hz, 2H, 11/11'-H_Z), 7.97 (d, ³J = 8.5 Hz, 1H, 3-H_Z), 7.91 - 7.89 (m, 2H, 9-H_E + 4-H_Z), 7.82 (d, ³J = 8.2 Hz, 2H, 11/11'-H_E), 7.73 (dd, ³J = 8.5 Hz, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, 4-H_E), 7.63 (d, ³J = 8.5 Hz, 1H, 3-H_E), 7.55 (d, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, 6-H_E), 7.52 (d, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, 6-H_Z).</p>
¹³C-NMR:	<p>(125 MHz, DMSO-d₆, 300 K); Anzahl der C-Atome wird normiert auf das jeweilige Isomer angegeben, bei Überlagerung normiert auf ein Isomer. Die Zuordnung der Signale zum jeweiligen Isomer erfolgte auf Grundlage der Signalintensitäten.</p> <p>δ (ppm) = 167.9 (C1_E), 166.7 (C14_E), 166.6 (C1_Z), 166.4 (C14_Z), 148.0 (C5_E), 147.7 (C5_Z), 143.8 (C8_E), 141.4 (C8_Z), 140.3 (C9_Z), 139.5 (C9_E), 138.0 (C10_E), 137.2 (C10_Z), 132.5 (C7_Z), 132.3 (2C, C12/12'_Z), 132.0 (C7_E), 131.1 (C2_Z), 129.7 (2C, C12/12'_E), 129.6 (2C, C11/11'_E), 129.0 (2C, C11/11'_Z), 127.3 (C2_E), 126.8 (C13_E), 126.7 (C13_Z), 123.1 (C3_E), 120.8 (C3_Z), 116.8 (C4_E), 116.8 (C4_Z), 104.4 (C6_E), 103.9 (C6_Z).</p>
HR-MS: (APCI)	<p>Für C₁₆H₁₀N₂O₅ (M)⁺</p> <p>ber.: 310.0595</p> <p>gef.: 310.0602</p>
EA:	<p>Für C₁₆H₁₀N₂O₅ x 0.25 H₂O ber./gef. (%)</p> <p>N: 8.90 / 8.47</p> <p>C: 61.05 / 60.68</p> <p>H: 3.36 / 3.52</p>
Smp.	Zersetzung bei > 350 °C

7 FORMELVERZEICHNIS

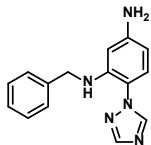
7.1 Kapitel 2



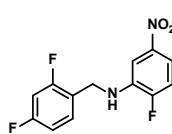
2.16



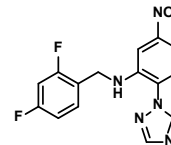
2.17



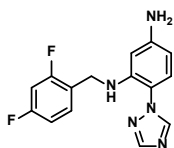
2.18



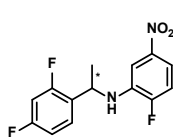
2.22



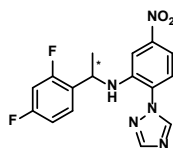
2.23



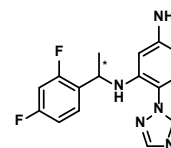
2.24



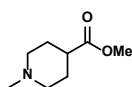
2.20



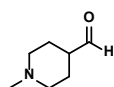
2.25



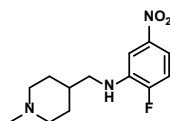
2.26



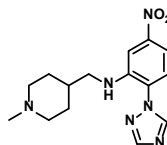
2.29



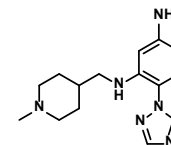
2.27



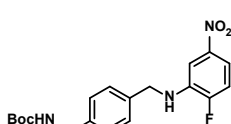
2.30



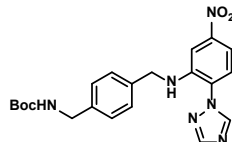
2.31



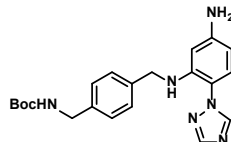
2.2



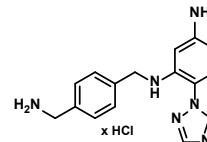
2.34



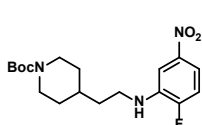
2.35



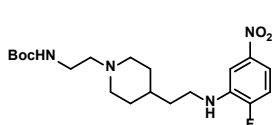
2.36



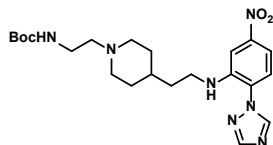
2.37



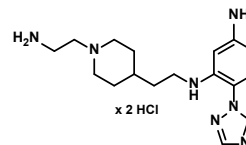
2.40



2.42

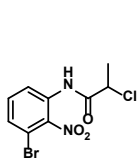


2.43

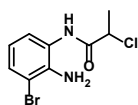


2.44

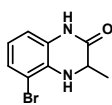
7.2 Kapitel 3



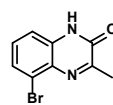
3.16



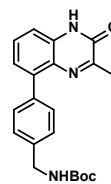
3.17



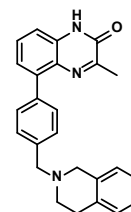
3.18



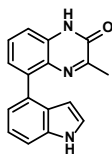
3.6



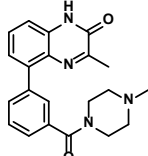
3.8



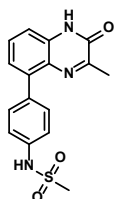
3.9



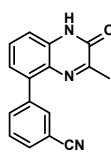
3.10



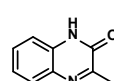
3.11



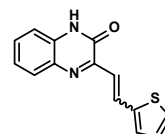
3.12



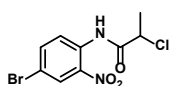
3.13



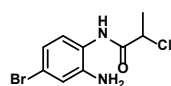
3.2



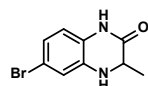
3.1



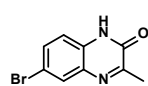
3.39



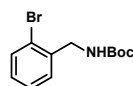
3.40



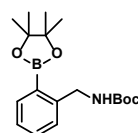
3.41



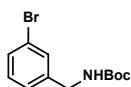
3.42



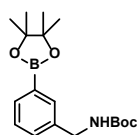
3.44



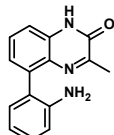
3.45



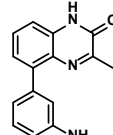
3.47



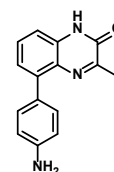
3.48



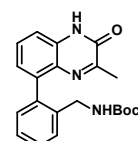
3.28



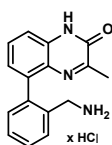
3.29



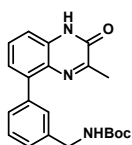
3.30



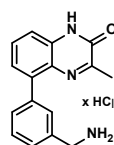
3.52



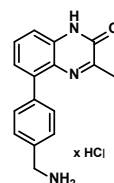
3.31



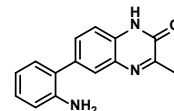
3.53



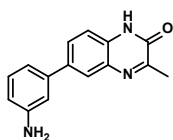
3.32



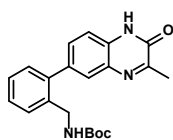
3.33



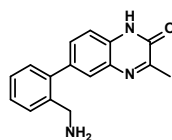
3.34



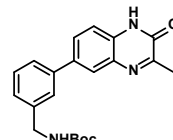
3.35



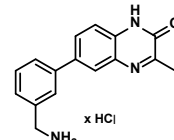
3.54



3.36

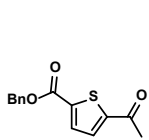


3.55

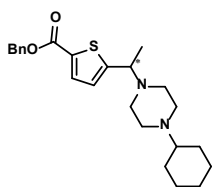


3.37

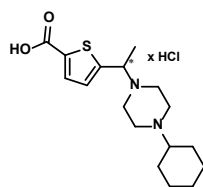
7.3 Kapitel 4



4.19



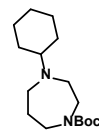
4.21



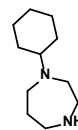
4.22



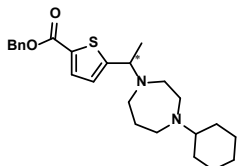
4.24



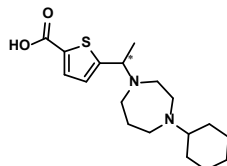
4.25



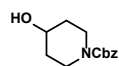
4.18



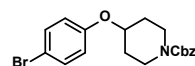
4.26



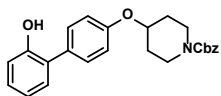
4.27



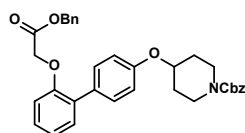
4.34



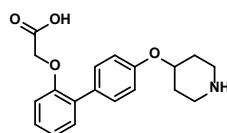
4.32



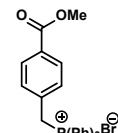
4.37



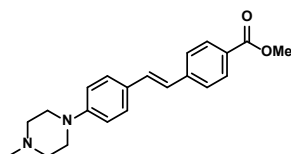
4.39



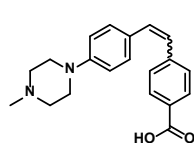
4.30



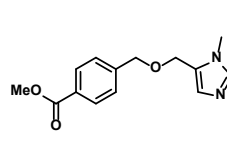
4.43



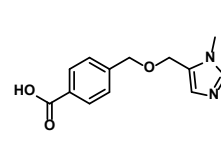
4.44



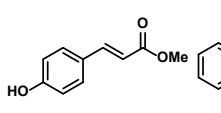
4.45



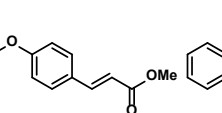
4.8



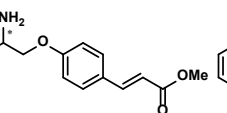
4.9



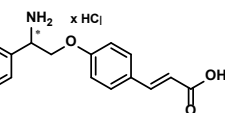
4.48



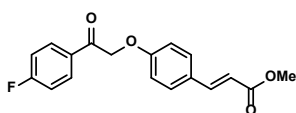
4.51



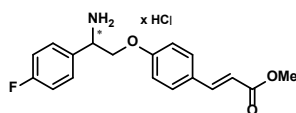
4.53



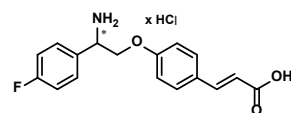
4.55



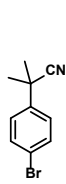
4.52



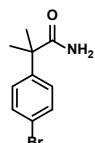
4.54



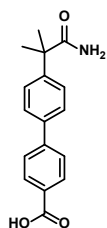
4.56



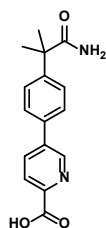
4.61



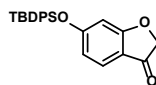
4.58



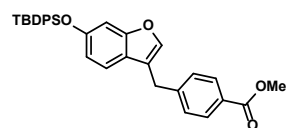
4.63



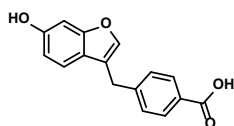
4.15



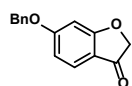
4.67



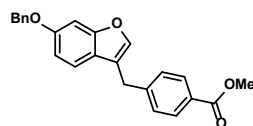
4.68 - korrigiert



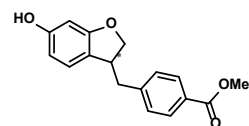
4.70



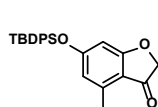
4.71



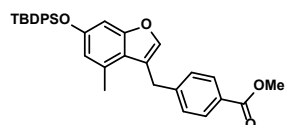
4.72



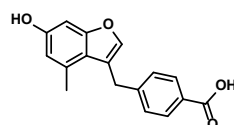
4.73



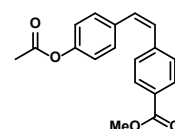
4.74



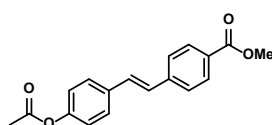
4.75



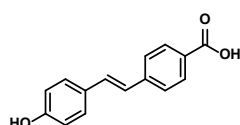
4.76



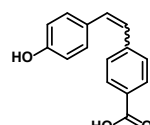
4.80



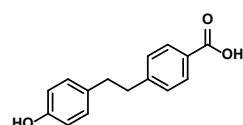
4.81



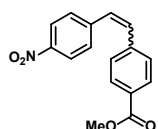
4.82



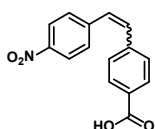
4.83



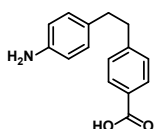
4.92



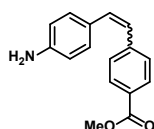
4.85



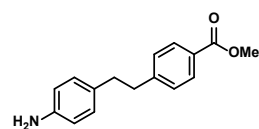
4.86



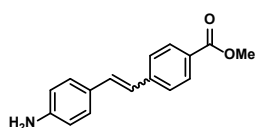
4.91



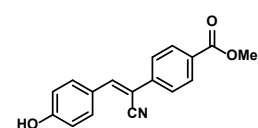
4.88



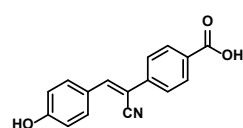
4.89



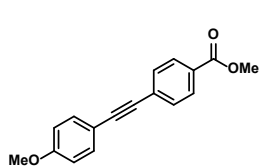
4.90



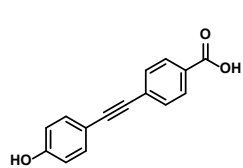
4.94



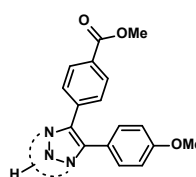
4.95



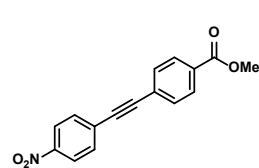
4.98



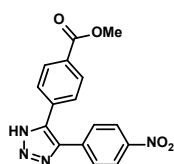
4.99



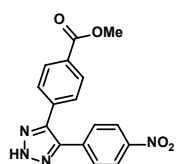
4.104



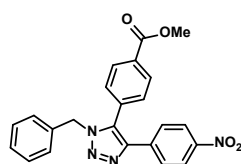
4.106



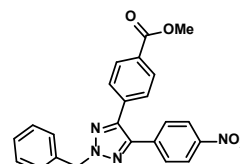
4.107



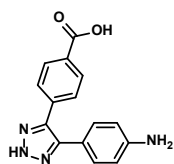
4.108



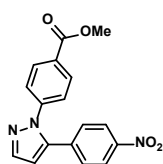
4.109



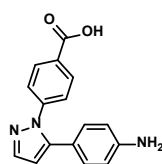
4.110



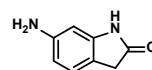
4.114



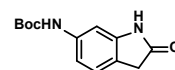
4.117



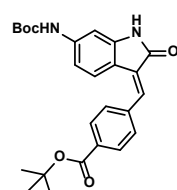
4.118



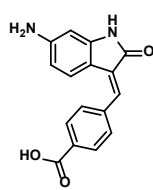
4.130



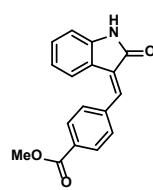
4.133



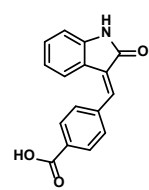
4.135



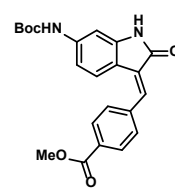
4.131



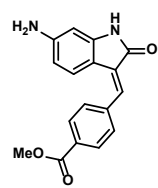
4.141



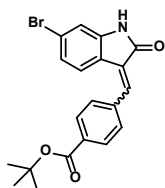
4.136



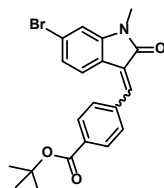
4.142



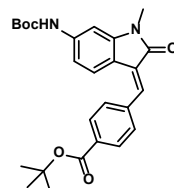
4.137



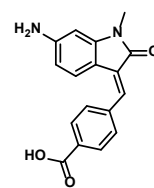
4.144



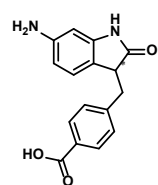
4.145



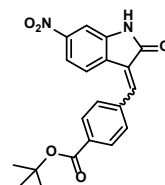
4.146



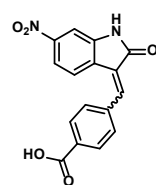
4.138



4.139



4.148



4.149

8 BIBLIOGRAPHIE

- (1) Ferguson, F. M.; Gray, N. S. Kinase inhibitors: The road ahead. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2018**, *17* (5), 353–376. <https://doi.org/10.1038/nrd.2018.21>.
- (2) Riedmann, K.; Bassermann, F.; Jost, P. J. Kinaseinhibitoren in der Onkologie : Was ist neu? *Internist (Berl)*. **2019**, *60* (5), 540–544. <https://doi.org/10.1007/s00108-019-0577-8>.
- (3) <https://www.ppu.mrc.ac.uk/list-clinically-approved-kinase-inhibitors>, 01.04.2020.
- (4) Santos, R.; Ursu, O.; Gaulton, A.; Bento, A. P.; Donadi, R. S.; Bologa, C. G.; Karlsson, A.; Al-Lazikani, B.; Hersey, A.; Oprea, T. I.; Overington, J. P. A comprehensive map of molecular drug targets. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2017**, *16* (1), 19–34. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.230>.
- (5) Manning, G.; Whyte, D. B.; Martinez, R.; Hunter, T.; Sudarsanam, S. The protein kinase complement of the human genome. *Science (80-.)*. **2002**, *298* (5600), 1912–1934. <https://doi.org/10.1126/science.1075762>.
- (6) <https://www.fda.gov/drugs/new-drugs-fda-cders-new-molecular-entities-and-new-therapeutic-biological-products/novel-drug-approvals-2015>.
- (7) Sun, J.; Wei, Q.; Zhou, Y.; Wang, J.; Liu, Q.; Xu, H. A systematic analysis of FDA-approved anticancer drugs. *BMC Syst. Biol.* **2017**, *11* (Suppl 5). <https://doi.org/10.1186/s12918-017-0464-7>.
- (8) Klebe, G. *Wirkstoffdesign*, 2. Auflage.; Spektrum Akademischer Verlag, 2009.
- (9) Dendrogramm der phylogenetischen Einteilung der Kinasen <https://www.cellsignal.com/contents/science-protein-kinases/protein-kinases-human-protein-kinases-overview/kinases-human-protein>.
- (10) Lahiry, P.; Torkamani, A.; Schork, N. J.; Hegele, R. A. Kinase mutations in human disease: Interpreting genotype-phenotype relationships. *Nat. Rev. Genet.* **2010**, *11* (1), 60–74. <https://doi.org/10.1038/nrg2707>.
- (11) Levitzki, A. Protein kinase inhibitors as a therapeutic modality. *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36* (6), 462–469. <https://doi.org/10.1021/ar0201207>.
- (12) Fedorov, O.; Müller, S.; Knapp, S. The (un)targeted cancer kinome. *Nat. Chem. Biol.* **2010**, *6* (3), 166–169. <https://doi.org/10.1038/nchembio.297>.
- (13) Wolanin, P. M.; Thomason, P. A.; Stock, J. B. Histidine protein kinases: Key signal transducers outside the animal kingdom. *Genome Biol.* **2002**, *3* (10), 1–8. <https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-10-reviews3013>.
- (14) Torosantucci, A.; Chiani, P.; De Bernardis, F.; Cassone, A.; Calera, J. A.; Calderone, R. Deletion of the two-component histidine kinase gene (CHK1) of *Candida albicans* contributes to enhanced growth inhibition and killing by human neutrophils in vitro. *Infect. Immun.* **2002**, *70* (2), 985–987. <https://doi.org/10.1128/IAI.70.2.985-987.2002>.
- (15) Fabian, M. A.; Biggs, W. H.; Treiber, D. K.; Atteridge, C. E.; Azimioara, M. D.; Benedetti, M. G.; Carter, T. A.; Ciceri, P.; Edeen, P. T.; Floyd, M.; Ford, J. M.; Galvin, M.; Gerlach, J. L.; Grotzfeld, R. M.; Herrgard, S.; Insko, D. E.; Insko, M. A.; Lai, A. G.; Lélías, J. M.; Mehta, S. A.; Milanov, Z. V.; Velasco, A. M.; Wodicka, L. M.; Patel, H. K.; Zarrinkar, P. P.; Lockhart, D. J. A small molecule-kinase interaction map for clinical kinase inhibitors. *Nat. Biotechnol.* **2005**, *23* (3), 329–336. <https://doi.org/10.1038/nbt1068>.
- (16) Müller, S.; Chaikuad, A.; Gray, N. S.; Knapp, S. The ins and outs of selective kinase inhibitor development. *Nat. Chem. Biol.* **2015**, *11* (11), 818–821. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1938>.
- (17) Zhao, Z.; Wu, H.; Wang, L.; Liu, Y.; Knapp, S.; Liu, Q.; Gray, N. S. Exploration of type II binding mode: A privileged approach for kinase inhibitor focused drug discovery? *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9* (6), 1230–1241. <https://doi.org/10.1021/cb500129t>.
- (18) Zhou, T.; Commodore, L.; Huang, W. S.; Wang, Y.; Sawyer, T. K.; Shakespeare, W. C.; Clackson, T.; Zhu, X.; Dalgarno, D. C. Structural analysis of DFG-in and DFG-out dual Src-Abl inhibitors sharing a common vinyl purine template. *Chem. Biol. Drug Des.* **2010**, *75* (1), 18–28. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2009.00905.x>.
- (19) Kooistra, A. J.; Kanev, G. K.; Van Linden, O. P. J.; Leurs, R.; De Esch, I. J. P.; De Graaf, C. KLIFS: A structural kinase-ligand interaction database. *Nucleic Acids Res.* **2016**, *44* (D1), D365–D371. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1082>.
- (20) Gushwa, N. N.; Kang, S.; Chen, J.; Taunton, J. Selective targeting of distinct active site nucleophiles by irreversible Src-family kinase inhibitors. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (50), 20214–20217. <https://doi.org/10.1021/ja310659j>.
- (21) Zhao, Z.; Xie, L.; Bourne, P. E. Insights into the binding mode of MEK type-III inhibitors. A step towards discovering and designing allosteric kinase inhibitors across the human kinome. *PLoS One* **2017**, *12* (6), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179936>.
- (22) Xie, Y.; Xu, K.; Dai, B.; Guo, Z.; Jiang, T.; Chen, H.; Qiu, Y. The 44kDa Pim-1 kinase directly interacts with tyrosine kinase Etk/BMX and protects human prostate cancer cells from apoptosis induced by chemotherapeutic drugs. *Oncogene* **2006**, *25* (1), 70–78. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209058>.

- (23) Bullock, A. N.; Debreczeni, J.; Amos, A. L.; Knapp, S.; Turk, B. E. Structure and substrate specificity of the Pim-1 kinase. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280* (50), 41675–41682. <https://doi.org/10.1074/jbc.M510711200>.
- (24) Magnuson, N. S.; Wang, Z.; Ding, G.; Reeves, R. Why target PIM1 for cancer diagnosis and treatment? *Futur. Oncol.* **2010**, *6* (9), 1461–1478. <https://doi.org/10.2217/fon.10.106>.
- (25) <https://www.uniprot.org/align/>, 17.04.2020.
- (26) Theo Cuypers, H.; Selten, G.; Quint, W.; Zijlstra, M.; Maandag, E. R.; Boelens, W.; van Wezenbeek, P.; Melief, C.; Berns, A. Murine leukemia virus-induced T-cell lymphomagenesis: Integration of proviruses in a distinct chromosomal region. *Cell* **1984**, *37* (1), 141–150. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(84\)90309-X](https://doi.org/10.1016/0092-8674(84)90309-X).
- (27) Telerman, A.; Amson, R.; Zakut-Houri, R.; Givol, D. Identification of the human pim-1 gene product as a 33-kilodalton cytoplasmic protein with tyrosine kinase activity. *Mol. Cell. Biol.* **1988**, *8* (4), 1498–1503. <https://doi.org/10.1128/mcb.8.4.1498>.
- (28) Saris, C. J.; Domen, J.; Berns, A. The pim-1 oncogene encodes two related protein-serine/threonine kinases by alternative initiation at AUG and CUG. *EMBO J.* **1991**, *10* (3), 655–664. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1991.tb07994.x>.
- (29) van der Lugt, N. M.; Domen, J.; Verhoeven, E.; Linders, K.; van der Gulden, H.; Allen, J.; Berns, A. Proviral tagging in E mu-myc transgenic mice lacking the Pim-1 proto-oncogene leads to compensatory activation of Pim-2. *EMBO J.* **1995**, *14* (11), 2536–2544. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1995.tb07251.x>.
- (30) Feldman, J. D.; Vician, L.; Crispino, M.; Tocco, G.; Marcheselli, V. L.; Bazan, N. G.; Baudry, M.; Herschman, H. R. KID-1, a protein kinase induced by depolarization in brain. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273* (26), 16535–16543. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.26.16535>.
- (31) Allen, J. D.; Verhoeven, E.; Domen, J.; Van Der Valk, M.; Berns, A. Pim-2 transgene induces lymphoid tumors, exhibiting potent synergy with c-myc. *Oncogene* **1997**, *15* (10), 1133–1141. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1201288>.
- (32) Jacobs, M. D.; Black, J.; Futer, O.; Swenson, L.; Hare, B.; Fleming, M.; Saxena, K. Pim-1 ligand-bound structures reveal the mechanism of serine/threonine kinase inhibition by LY294002. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280* (14), 13728–13734. <https://doi.org/10.1074/jbc.M413155200>.
- (33) Warfel, N. A.; Sainz, A. G.; Song, J. H.; Kraft, A. S. PIM Kinase inhibitors kill hypoxic tumor cells by reducing Nrf2 signaling and increasing reactive oxygen species. *Mol. Cancer Ther.* **2016**, *15* (7), 1637–1647. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-15-1018>.
- (34) Zhu, N.; Ramirez, L. M.; Lee, R. L.; Magnuson, N. S.; Bishop, G. A.; Gold, M. R. CD40 Signaling in B Cells Regulates the Expression of the Pim-1 Kinase Via the NF-κB Pathway. *J. Immunol.* **2002**, *168* (2), 744–754. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.2.744>.
- (35) Fox, C. J. The serine/threonine kinase Pim-2 is a transcriptionally regulated apoptotic inhibitor. *Genes Dev.* **2003**, *17* (15), 1841–1854. <https://doi.org/10.1101/gad.1105003>.
- (36) Zhang, X.; Song, M.; Kundu, J. K.; Lee, M.-H.; Liu, Z.-Z. PIM Kinase as an Executional Target in Cancer. *J. Cancer Prev.* **2018**, *23* (3), 109–116. <https://doi.org/10.15430/jcp.2018.23.3.109>.
- (37) Rane, S. G.; Reddy, E. P. Janus kinases: Components of multiple signaling pathways. *Oncogene* **2000**, *19* (49), 5662–5679. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1203925>.
- (38) Matikainen, S.; Sareneva, T.; Ronni, T.; Lehtonen, A.; Koskinen, P. J.; Julkunen, I. Interferon-α activates multiple STAT proteins and upregulates proliferation-associated IL-2Rα, c-myc, and pim-1 genes in human T cells. *Blood* **1999**, *93* (6), 1980–1991. https://doi.org/10.1182/blood.v93.6.1980.406k20_1980_1991.
- (39) Peltola, K. J.; Paukku, K.; Aho, T. L. T.; Ruuska, M.; Silvennoinen, O.; Koskinen, P. J. Pim-1 kinase inhibits STAT5-dependent transcription via its interactions with SOCS1 and SOCS3. *Blood* **2004**, *103* (10), 3744–3750. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-09-3126>.
- (40) Shay, K. P.; Wang, Z.; Xing, P. X.; McKenzie, I. F. C.; Magnuson, N. S. Pim-1 kinase stability is regulated by heat shock proteins and the ubiquitin-proteasome pathway. *Mol. Cancer Res.* **2005**, *3* (3), 170–181. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-04-0192>.
- (41) Ma, J.; Arnold, H. K.; Lilly, M. B.; Sears, R. C.; Kraft, A. S. Negative regulation of Pim-1 protein kinase levels by the B56β subunit of PP2A. *Oncogene* **2007**, *26* (35), 5145–5153. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210323>.
- (42) Mikkers, H.; Nawijn, M.; Allen, J.; Brouwers, C.; Verhoeven, E.; Jonkers, J.; Berns, A. Mice Deficient for All PIM Kinases Display Reduced Body Size and Impaired Responses to Hematopoietic Growth Factors. *Mol. Cell. Biol.* **2004**, *24* (13), 6104–6115. <https://doi.org/10.1128/mcb.24.13.6104-6115.2004>.
- (43) Zhang, Y.; Wang, Z.; Li, X.; Magnuson, N. S. Pim kinase-dependent inhibition of c-Myc degradation. *Oncogene* **2008**, *27* (35), 4809–4819. <https://doi.org/10.1038/onc.2008.123>.

- (44) Verbeek, S.; van Lohuizen, M.; Van Der Valk, M.; Domen, J.; Kraal, G.; Berns, A. Mice Bearing the Ep.-myc and E,u-pim-I Transgenes Develop Pre-B-Cell Leukemia Prenatally. *Mol. Cell. Biol.* **1991**, *11* (2), 1176–1179.
- (45) Horiuchi, D.; Kusdra, L.; Huskey, N. E.; Chandriani, S.; Lenburg, M. E.; Gonzalez-Angulo, A. M.; Creasman, K. J.; Bazarov, A. V.; Smyth, J. W.; Davis, S. E.; Yaswen, P.; Mills, G. B.; Esserman, L. J.; Goga, A. MYC pathway activation in triple-negative breast cancer is synthetic lethal with CDK inhibition. *J. Exp. Med.* **2012**, *209* (4), 679–696. <https://doi.org/10.1084/jem.20111512>.
- (46) Shirogane, T.; Fukada, T.; Muller, J. M. M.; Shima, D. T.; Hibi, M.; Hirano, T. Synergistic roles for Pim-1 and c-Myc in STAT3-mediated cell cycle progression and antiapoptosis. *Immunity* **1999**, *11* (6), 709–719. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80145-4](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80145-4).
- (47) Zippo, A.; De Robertis, A.; Serafini, R.; Oliviero, S. PIM1-dependent phosphorylation of histone H3 at serine 10 is required for MYC-dependent transcriptional activation and oncogenic transformation. *Nat. Cell Biol.* **2007**, *9* (8), 932–944. <https://doi.org/10.1038/ncb1618>.
- (48) Morishita, D.; Katayama, R.; Sekimizu, K.; Tsuruo, T.; Fujita, N. Pim kinases promote cell cycle progression by phosphorylating and down-regulating p27kip1 at the transcriptional and posttranscriptional levels. *Cancer Res.* **2008**, *68* (13), 5076–5085. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-0634>.
- (49) Smith, J. A.; Martin, L. Do cells cycle? *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1973**, *70* (4), 1263–1267. <https://doi.org/10.1073/pnas.70.4.1263>.
- (50) Wang, Z.; Bhattacharya, N.; Mixer, P. F.; Wei, W.; Sedivy, J.; Magnuson, N. S. Phosphorylation of the cell cycle inhibitor p21Cip1/WAF1 by Pim-1 kinase. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* **2002**, *1593* (1), 45–55. [https://doi.org/10.1016/S0167-4889\(02\)00347-6](https://doi.org/10.1016/S0167-4889(02)00347-6).
- (51) Roh, M.; Gary, B.; Song, C.; Said-Al-Naief, N.; Tousson, A.; Kraft, A.; Eltoum, I. E.; Abdulkadir, S. A. Overexpression of the Oncogenic Kinase Pim-1 Leads to Genomic Instability. *Cancer Res.* **2003**, *63* (23), 8079–8084.
- (52) Pestell, R. G.; Albanese, C.; Reutens, A. T.; Segall, J. E.; Lee, R. J.; Arnold, A. The cyclins and cyclin-dependent kinase inhibitors in hormonal regulation of proliferation and differentiation. *Endocr. Rev.* **1999**, *20* (4), 501–534. <https://doi.org/10.1210/er.20.4.501>.
- (53) Saha, A.; Halder, S.; Upadhyay, S. K.; Lu, J.; Kumar, P.; Murakami, M.; Cai, Q.; Robertson, E. S. Epstein-Barr virus nuclear antigen 3c facilitates G1-S transition by stabilizing and enhancing the function of Cyclin D1. *PLoS Pathog.* **2011**, *7* (2). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001275>.
- (54) Jain, A. K.; Allton, K.; Iacovino, M.; Mahen, E.; Milczarek, R. J.; Zwaka, T. P.; Kyba, M.; Barton, M. C. P53 regulates cell cycle and micrornas to promote differentiation of human embryonic stem cells. *PLoS Biol.* **2012**, *10* (2). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001268>.
- (55) Banerjee, S.; Lu, J.; Cai, Q.; Sun, Z.; Jha, H. C.; Robertson, E. S. EBNA3C Augments Pim-1 Mediated Phosphorylation and Degradation of p21 to Promote B-Cell Proliferation. *PLoS Pathog.* **2014**, *10* (8). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004304>.
- (56) Li, Y.; Lou, L.; Wang, Y.; Cui, J.; Yan, X.; Xue, L. Differential expression of Pim-3, c-Myc, and p-p27 proteins in adenocarcinomas of the gastric cardia and distal stomach. *Tumor Biol.* **2014**, *35* (5), 5029–5036. <https://doi.org/10.1007/s13277-014-1664-z>.
- (57) Zhang, Y.; Wang, Z.; Magnuson, N. S. Pim-1 kinase-dependent phosphorylation of p21Cip1/WAF1 regulates its stability and cellular localization in H1299 cells. *Mol. Cancer Res.* **2007**, *5* (9), 909–922. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-06-0388>.
- (58) Moura, M.; Conde, C. Phosphatases in Mitosis: Roles and regulation. *Biomolecules* **2019**, *9* (2), 1–54. <https://doi.org/10.3390/biom9020055>.
- (59) Mochizuki, T.; Kitanaka, C.; Noguchi, K.; Muramatsu, T.; Asai, A.; Kuchino, Y. Physical and functional interactions between pim-1 kinase and Cdc25A phosphatase. Implications for the Pim-1-mediated activation of the c-Myc signaling pathway. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274* (26), 18659–18666. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.26.18659>.
- (60) Bachmann, M.; Hennemann, H.; Pei, X. X.; Hoffmann, I.; Mörröy, T. The oncogenic serine/threonine kinase Pim-1 phosphorylates and inhibits the activity of Cdc25C-associated kinase 1 (C-TAK1): A Novel role for Pim-1 at the G2TM cell cycle checkpoint. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279* (46), 48319–48328. <https://doi.org/10.1074/jbc.M404440200>.
- (61) Bachmann, M.; Kosan, C.; Xing, P. X.; Montenarh, M.; Hoffmann, I.; Mörröy, T. The oncogenic serine/threonine kinase Pim-1 directly phosphorylates and activates the G2/M specific phosphatase Cdc25C. *J. Biochem. Cell Biol.* **2006**, *38* (3), 430–443.
- (62) Bhattacharya, N.; Wang, Z.; Davitt, C.; McKenzie, I. F. C.; Xing, P. X.; Magnuson, N. S. Pim-1 associates with protein complexes necessary for mitosis. *Chromosoma* **2002**, *111* (2), 80–95. <https://doi.org/10.1007/s00412-002-0192-6>.
- (63) Koike, N.; Maita, H.; Taira, T.; Ariga, H.; Iguchi-Ariga, S. M. M. Identification of heterochromatin protein 1 (HP1) as a

- phosphorylation target by Pim-1 kinase and the effect of phosphorylation on the transcriptional repression function of HP1. *FEBS Lett.* **2000**, 467 (1), 17–21. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(00\)01105-4](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(00)01105-4).
- (64) Karch, J.; Molkentin, J. D. Regulated necrotic cell death: The passive aggressive side of bax and bak. *Circ. Res.* **2015**, 116 (11), 1800–1809. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.305421>.
- (65) Bogner, C.; Leber, B.; Andrews, D. W. Apoptosis: embedded in membranes. *Curr. Opin. Cell Biol.* **2010**, 22 (6), 845–851. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2010.08.002>.
- (66) Ghibelli, L.; Diederich, M. Multistep and multitask Bax activation. *Mitochondrion* **2010**, 10 (6), 604–613.
- (67) Green, D. R.; Kroemer, G. The pathophysiology of mitochondrial cell death. *Science (80-.)*. **2004**, 305 (5684), 626–629. <https://doi.org/10.1126/science.1099320>.
- (68) Zhou, X. M.; Liu, Y.; Payne, G.; Lutz, R. J.; Chittenden, T. Growth factors inactivate the cell death promoter BAD by phosphorylation of its BH3 domain on Ser155. *J. Biol. Chem.* **2000**, 275 (32), 25046–25051. <https://doi.org/10.1074/jbc.M002526200>.
- (69) Yan, B.; Zemskova, M.; Holder, S.; Chin, V.; Kraft, A.; Koskinen, P. J.; Lilly, M. The PIM-2 Kinase Phosphorylates BAD on Serine 112 and Reverses BAD-induced Cell Death. *J. Biol. Chem.* **2003**, 278 (46), 45358–45367. <https://doi.org/10.1074/jbc.M307933200>.
- (70) Aho, T. L. T.; Sandholm, J.; Peltola, K. J.; Mankonen, H. P.; Lilly, M.; Koskinen, P. J. Pim-1 kinase promotes inactivation of the pro-apoptotic Bad protein by phosphorylating it on the Ser112 gatekeeper site. *FEBS Lett.* **2004**, 571 (1–3), 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2004.06.050>.
- (71) Li, Y. Y.; Popivanova, B. K.; Nagai, Y.; Ishikura, H.; Fujii, C.; Mukaida, N. Pim-3, a proto-oncogene with serine/threonine kinase activity, is aberrantly expressed in human pancreatic cancer and phosphorylates bad to block bad-mediated apoptosis in human pancreatic cancer cell lines. *Cancer Res.* **2006**, 66 (13), 6741–6747. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-4272>.
- (72) Dhanasekaran, S. M.; Barrette, T. R.; Ghosh, D.; Shah, R.; Varambally, S.; Kurachi, K.; Pienta, K. J.; Rubin, M. A.; Chinnaiyan, A. M. Delineation of prognostic biomarkers in prostate cancer. *Nature* **2001**, 412 (6849), 822–826. <https://doi.org/10.1038/35090585>.
- (73) Valdman, A.; Fang, X.; Pang, S. T.; Ekman, P.; Egevad, L. Pim-I expression in prostatic intraepithelial neoplasia and human prostate cancer. *Prostate* **2004**, 60 (4), 367–371. <https://doi.org/10.1002/pros.20064>.
- (74) Chen, C. N.; Lin, J. J.; Chen, J. J. W.; Lee, P. H.; Yang, C. Y.; Kuo, M. L.; Chang, K. J.; Hsieh, F. J. Gene expression profile predicts patient survival of gastric cancer after surgical resection. *J. Clin. Oncol.* **2005**, 23 (29), 7286–7295. <https://doi.org/10.1200/JCO.2004.00.2253>.
- (75) Buchholz, M.; Braun, M.; Heidenblut, A.; Kestler, H. A.; Klöppel, G.; Schmiegel, W.; Hahn, S. A.; Lüttges, J.; Gress, T. M. Transcriptome analysis of microdissected pancreatic intraepithelial neoplastic lesions. *Oncogene* **2005**, 24 (44), 6626–6636. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208804>.
- (76) Reiser-Erkan, C.; Erkan, M.; Pan, Z.; Bekasi, S.; Giese, N. A.; Streit, S.; Michalski, C. W.; Friess, H.; Kleeff, J. Hypoxia-inducible proto-oncogene Pim-1 is a prognostic marker in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Biol. Ther.* **2008**, 7 (9), 1352–1359. <https://doi.org/10.4161/cbt.7.9.6418>.
- (77) Beier, U. H.; Weise, J. B.; Laudien, M.; Sauerwein, H.; Görögh, T. Overexpression of Pim-1 in head and neck squamous cell carcinomas. *Int. J. Oncol.* **2007**, 30 (6), 1381–1387. <https://doi.org/10.3892/ijo.30.6.1381>.
- (78) Peltola, K.; Hollmen, M.; Maula, S. M.; Rainio, E.; Ristamäki, R.; Luukkaa, M.; Sandholm, J.; Sundvall, M.; Elenius, K.; Koskinen, P. J.; Grenman, R.; Jalkanen, S. Pim-1 kinase expression predicts radiation response in squamocellular carcinoma of head and neck and is under the control of epidermal growth factor receptor. *Neoplasia* **2009**, 11 (7), 629–636. <https://doi.org/10.1593/neo.81038>.
- (79) Saurabh, K.; Scherzer, M. T.; Shah, P. P.; Mims, A. S.; Lockwood, W. W.; Kraft, A. S.; Beverly, L. J. The PIM family of oncoproteins: Small kinases with huge implications in myeloid leukemogenesis and as therapeutic targets. *Oncotarget* **2014**, 5 (18), 8503–8514. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2330>.
- (80) Fujii, C.; Nakamoto, Y.; Lu, P.; Tsuneyama, K.; Popivanova, B. K.; Kaneko, S.; Mukaida, N. Aberrant expression of serine/threonine kinase Pim-3 in hepatocellular carcinoma development and its role in the proliferation of human hepatoma cell lines. *Int. J. Cancer* **2005**, 114 (2), 209–218. <https://doi.org/10.1002/ijc.20719>.
- (81) Grundler, R.; Brault, L.; Gasser, C.; Bullock, A. N.; Dechow, T.; Woetzel, S.; Pogacic, V.; Villa, A.; Ehret, S.; Berridge, G.; Spoo, A.; Dierks, C.; Biondi, A.; Knapp, S.; Duyster, J.; Schwaller, J. Dissection of PIM serine/threonine kinases in FLT3-ITD-induced leukemogenesis reveals PIM1 as regulator of CXCL12-CXCR4-mediated homing and migration. *J. Exp. Med.* **2009**, 206 (9), 1957–1970. <https://doi.org/10.1084/jem.20082074>.
- (82) Spoo, A. C.; Lübbert, M.; Wierda, W. G.; Burger, J. A. CXCR4 is a prognostic marker in acute myelogenous leukemia. *Blood* **2007**, 109 (2), 786–791. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-05-024844>.

- (83) Woodland, R. T.; Fox, C. J.; Schmidt, M. R.; Hammerman, P. S.; Opferman, J. T.; Korsmeyer, S. J.; Hilbert, D. M.; Thompson, C. B. Multiple Signaling Pathways Promote B Lymphocyte Stimulator Dependent B-Cell Growth and Survival. *Blood* **2008**, *111* (2), 750–760. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-03-077222>.
- (84) Cohen, A. M.; Grinblat, B.; Bessler, H.; Kristt, D. A.; Kremer, A.; Shalom, S.; Schwartz, A.; Halperin, M.; Merkel, D.; Don, J. Increased expression of the hPim-2 gene in human chronic lymphocytic leukemia and non-Hodgkin lymphoma. *Leuk. Lymphoma* **2004**, *45* (5), 951–955. <https://doi.org/10.1080/10428190310001641251>.
- (85) Hüttmann, A.; Klein-Hitpass, L.; Thomale, J.; Deenen, R.; Carpinteiro, A.; Nückel, H.; Ebeling, P.; Führer, A.; Edelmann, J.; Sellmann, L.; Dührsen, U.; Dürig, J. Gene expression signatures separate B-cell chronic lymphocytic leukaemia prognostic subgroups defined by ZAP-70 and CD38 expression status. *Leukemia* **2006**, *20* (10), 1774–1782. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404363>.
- (86) Tamburini, J.; Green AS; Bardet V; Chapuis N; Park S; Willems L; Uzunov M; Ifrah N; Dreyfus F; Lacombe C; Mayeux P; D., B. Protein synthesis is resistant to rapamycin and constitutes a promising therapeutic target in acute myeloid leukemia. *Blood* **2009**, *114* (1618–27), 1–3. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-10-184515>.An.
- (87) De Benedetti, A.; Graff, J. R. eIF-4E expression and its role in malignancies and metastases. *Oncogene* **2004**, *23* (18), 3189–3199. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1207545>.
- (88) Casillas, A. L.; Toth, R. K.; Sainz, A. G.; Singh, N.; Desai, A. A.; Kraft, A. S.; Warfel, N. A. Hypoxia-inducible PIM kinase expression promotes resistance to anti-angiogenic agents. *Clin Cancer Res.* **2018**, *24* (1), 169–180. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-1318>.
- (89) Sepulveda, A. R.; Tao, H.; Carloni, E.; Sepulveda, J.; Graham, D. Y.; Peterson, L. E. Screening of gene expression profiles in gastric epithelial cells induced by *Helicobacter pylori* using microarray analysis. *Aliment. Pharmacol. Ther. Suppl.* **2002**, *16* (2), 145–157. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2036.16.s2.4.x>.
- (90) Babel, I.; Barderas, R.; Díaz-Uriarte, R.; Martínez-Torrecuadrada, J. L.; Sánchez-Carbayo, M.; Casal, J. I. Identification of tumor-associated autoantigens for the diagnosis of colorectal cancer in serum using high density protein microarrays. *Mol. Cell. Proteomics* **2009**, *8* (10), 2382–2395. <https://doi.org/10.1074/mcp.M800596-MCP200>.
- (91) Narlik-Grassow, M.; Blanco-Aparicio, C.; Cecilia, Y.; Perez, M.; Muñoz-Galvan, S.; Cañamero, M.; Carnero, A. Conditional Transgenic Expression of PIM1 Kinase in Prostate Induces Inflammation-Dependent Neoplasia. *PLoS One* **2013**, *8* (4), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060277>.
- (92) Hoefnagel, J. J.; Dijkman, R.; Basso, K.; Jansen, P. M.; Hallermann, C.; Willemze, R.; Tensen, C. P.; Vermeer, M. H. Distinct types of primary cutaneous large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Blood* **2005**, *105* (9), 3671–3678. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-04-1594>.
- (93) Hsi, E. D.; Jung, S.; Lai, R.; Johnson, J. L.; Cook, J. R.; Jones, D.; Devos, S.; Cheson, B. D.; Damon, L. E.; Said, J. Ki67 and PIM1 expression predict outcome in mantle cell lymphoma treated with high dose therapy, stem cell transplantation and rituximab: a Cancer and Leukemia Group B 59909 correlative science study. *Leuk. Lymphoma* **2008**, *49* (11), 2081–2090. <https://doi.org/10.1080/10428190802419640>.
- (94) Kim, J.; Roh, M.; Abdulkadir, S. Kinase-independent tumorigenicity of Pim1 oncogene. *Cancer Res.* **2008**, *68* (9 Supplement), 3469 LP – 3469.
- (95) Velazquez, R.; Shaw, D. M.; Caccamo, A.; Oddo, S. Pim1 inhibition as a novel therapeutic strategy for Alzheimer's disease. *Mol. Neurodegener.* **2016**, *11* (1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s13024-016-0118-z>.
- (96) Keller, J. N.; Hanni, K. B.; Markesbery, W. R. Impaired proteasome function in Alzheimer's disease. *J. Neurochem.* **2000**, *75* (1), 436–439. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2000.0750436.x>.
- (97) Becker-Paully, C.; Pietrzik, C. U. Mice are not Men: ADAM30 Findings Emphasize a Broader Look Towards Murine Alzheimer's Disease Models. *EBioMedicine* **2016**, *9*, 19–20. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.06.035>.
- (98) Rettenmaier, T. J.; Sadowsky, J. D.; Thomsen, N. D.; Chen, S. C.; Doak, A. K.; Arkin, M. R.; Wells, J. A. A small-molecule mimic of a peptide docking motif inhibits the protein kinase PDK1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2014**, *111* (52), 18590–18595. <https://doi.org/10.1073/pnas.1415365112>.
- (99) Levinson, N. M.; Kuchment, O.; Shen, K.; Young, M. A.; Koldobskiy, M.; Karplus, M.; Cole, P. A.; Kuriyan, J. A Src-like inactive conformation in the Abl tyrosine kinase domain. *PLoS Biol.* **2006**, *4* (5), 753–767. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040144>.
- (100) Qian, K. C.; Wang, L.; Hickey, E. R.; Studts, J.; Barringer, K.; Peng, C.; Kronkatis, A.; Li, J.; White, A.; Mische, S.; Farmer, B. Structural basis of constitutive activity and a unique nucleotide binding mode of human Pim-1 kinase. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280* (7), 6130–6137. <https://doi.org/10.1074/jbc.M409123200>.
- (101) Cherry, M.; Williams, D. H. Recent Kinase and Kinase Inhibitor X-ray Structures: Mechanisms of Inhibition and Selectivity Insights. *Curr. Med. Chem.* **2005**, *11* (6), 663–673. <https://doi.org/10.2174/0929867043455792>.
- (102) Kumar, A.; Mandiyan, V.; Suzuki, Y.; Zhang, C.; Rice, J.; Tsai, J.; Artis, D. R.; Ibrahim, P.; Bremer, R. Crystal structures of

- proto-oncogene kinase Pim1: A target of aberrant somatic hypermutations in diffuse large cell lymphoma. *J. Mol. Biol.* **2005**, *348* (1), 183–193. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.02.039>.
- (103) Patel, A.; Malinowska, L.; Saha, S.; Wang, J.; Alberti, S.; Krishnan, Y.; Hyman, A. A. Biochemistry: ATP as a biological hydrotrope. *Science* (80-.). **2017**, *356* (6339), 753–756. <https://doi.org/10.1126/science.aaf6846>.
 - (104) Subramaniam, S.; Earl, L. A.; Falconieri, V.; Milne, J. L.; Egelman, E. H. Resolution advances in cryo-EM enable application to drug discovery. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2016**, *41*, 194–202. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2016.07.009>.
 - (105) Phasen der Arzneimittelentwicklung <https://www.novartis.at/unsere-arbeit/forschung-entwicklung/phasen-der-arzneimittelentwicklung>.
 - (106) Fischer, J.; Klein, C.; Childers, W. E. Successful Drug Discovery. *Chem. Int.* **2018**, *40* (4), 30–30. <https://doi.org/10.1515/ci-2018-0417>.
 - (107) Mayr, L. M.; Fuerst, P. The future of high-throughput screening. *J. Biomol. Screen.* **2008**, *13* (6), 443–448. <https://doi.org/10.1177/1087057108319644>.
 - (108) Carnero, A. High throughput screening in drug discovery. *Clin. Transl. Oncol.* **2006**, *8* (7), 482–490. <https://doi.org/10.1007/s12094-006-0048-2>.
 - (109) Schneider, G. Automating drug discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2018**, *17* (2), 97–113. <https://doi.org/10.1038/nrd.2017.232>.
 - (110) Liu, R.; Li, X.; Lam, K. S. Combinatorial chemistry in drug discovery. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2017**, *38* (3), 117–126. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2017.03.017>.
 - (111) Kontijevskis, A. Mapping of Drug-like Chemical Universe with Reduced Complexity Molecular Frameworks. *J. Chem. Inf. Model.* **2017**, *57* (4), 680–699. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.7b00006>.
 - (112) Giordanetto, F.; Jin, C.; Willmore, L.; Feher, M.; Shaw, D. E. Fragment Hits: What do They Look Like and How do They Bind? *J. Med. Chem.* **2019**, *62* (7), 3381–3394. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01855>.
 - (113) Kuhnert, M.; Köster, H.; Bartholomäus, R.; Park, A. Y.; Shahim, A.; Heine, A.; Steuber, H.; Klebe, G.; Diederich, W. E. Tracing binding modes in hit-to-lead optimization: Chameleon-like poses of aspartic protease inhibitors. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2015**, *54* (9), 2849–2853. <https://doi.org/10.1002/anie.201411206>.
 - (114) Lavecchia, A.; Giovanni, C. Virtual Screening Strategies in Drug Discovery: A Critical Review. *Curr. Med. Chem.* **2013**, *20* (23), 2839–2860. <https://doi.org/10.2174/09298673113209990001>.
 - (115) Keseru, G. M.; Makara, G. M. Hit discovery and hit-to-lead approaches. *Drug Discov. Today* **2006**, *11* (15–16), 741–748. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2006.06.016>.
 - (116) Bleicher, K. H.; Böhm, H. J.; Müller, K.; Alanine, A. I. Hit and lead generation: Beyond high-throughput screening. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2003**, *2* (5), 369–378. <https://doi.org/10.1038/nrd1086>.
 - (117) Mutschler, E.; Geisslinger, G.; Kroemer, H. K.; Menzel, S.; Ruth, P. *Mutschler Arzneimittelwirkungen*; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 2013.
 - (118) Luszczyk, S.; Kumar, C.; Sathyadevan, V. K.; Simpson, B. S.; Gately, K. A.; Whitaker, H. C.; Heavey, S. PIM kinase inhibition: co-targeted therapeutic approaches in prostate cancer. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2020**, *5* (1). <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0109-y>.
 - (119) Mazzacurati, L.; Collins, R. J.; Pandey, G.; Lambert-Showers, Q. T.; Amin, N. E.; Zhang, L.; Stubbs, M. C.; Epling-Burnette, P. K.; Koblish, H. K.; Reuther, G. W. The pan-PIM inhibitor INCB053914 displays potent synergy in combination with ruxolitinib in models of MPN. *Blood Adv.* **2019**, *3* (22), 3503–3514. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019000260>.
 - (120) Koblish, H.; Li, Y.; Long, S.; Shin, N.; Hall, L.; Wang, Q.; Wang, K.; Covington, M.; Marando, C.; Bowman, K.; Boer, J.; Burke, K.; Wynn, R.; Margulis, A.; Reuther, G. W.; Lambert, Q. T.; Roman, V. D.; Zhang, K.; Feng, H.; Xue, C. B.; Diamond, S.; Hollis, G.; Yeleswaram, S.; Yao, W.; Huber, R.; Vaddi, K.; Scherle, P. Preclinical characterization of INCB053914, a novel pan-PIM kinase inhibitor, alone and in combination with anticancer agents, in models of hematologic malignancies. *PLoS One* **2018**, *13* (6), 1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199108>.
 - (121) Qian, K.; Lian, W.; Cywin, C. L.; Farmer, B. T.; Hickey, E.; Homon, C.; Jakes, S.; Kashem, M. A.; Lee, G.; Leonard, S.; Jun, L.; Magboo, R.; Wang, M.; Pack, E.; Peng, C.; Prokopowicz, A.; Welzel, M.; Wolak, J.; Morwick, T. Hit to lead account of the discovery of a new class of inhibitors of pim kinases and crystallographic studies revealing an unusual kinase binding mode. *J. Med. Chem.* **2009**, *52* (7), 1814–1827. <https://doi.org/10.1021/jm801242y>.
 - (122) Keeton, E. K.; McEachern, K.; Dillman, K. S.; Palakurthi, S.; Cao, Y.; Grondine, M. R.; Kaur, S.; Wang, S.; Chen, Y.; Wu, A.; Shen, M.; Gibbons, F. D.; Lamb, M. L.; Zheng, X.; Stone, R. M.; DeAngelo, D. J.; Platanius, L. C.; Dakin, L. A.; Chen, H.; Lyne, P. D.; Huszar, D. AZD1208, a potent and selective pan-Pim kinase inhibitor, demonstrates efficacy in preclinical models of acute myeloid leukemia. *Blood* **2014**, *123* (6), 905–913. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-04-495366>.
 - (123) Burger, M. T.; Nishiguchi, G.; Han, W.; Lan, J.; Simmons, R.; Atallah, G.; Ding, Y.; Tamez, V.; Zhang, Y.; Mathur, M.; Muller,

- K.; Bellamacina, C.; Lindvall, M. K.; Zang, R.; Huh, K.; Feucht, P.; Zavorotinskaya, T.; Dai, Y.; Basham, S.; Chan, J.; Ginn, E.; Aycinena, A.; Holash, J.; Castillo, J.; Langowski, J. L.; Wang, Y.; Chen, M. Y.; Lambert, A.; Fritsch, C.; Kauffmann, A.; Pfister, E.; Vanasse, K. G.; Garcia, P. D. Identification of N-(4-((1R,3S,5S)-3-amino-5-methylcyclohexyl)pyridin-3-yl)-6-(2,6-difluorophenyl)-5-fluoropicolinamide (PIM447), a potent and selective proviral insertion site of Moloney murine leukemia (PIM) 1, 2, and 3 kinase inhibitor in clinical trial. *J. Med. Chem.* **2015**, *58* (21), 8373–8386. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01275>.
- (124) Haddach, M.; Michaux, J.; Schwaebel, M. K.; Pierre, F.; O'Brien, S. E.; Borsan, C.; Tran, J.; Raffaele, N.; Ravula, S.; Drygin, D.; Siddiqui-Jain, A.; Darjania, L.; Stansfield, R.; Proffitt, C.; MacAlino, D.; Streiner, N.; Bliesath, J.; Omori, M.; Whitten, J. P.; Anderes, K.; Rice, W. G.; Ryckman, D. M. Discovery of CX-6258. A potent, selective, and orally efficacious pan-pim kinases inhibitor. *ACS Med. Chem. Lett.* **2012**, *3* (2), 135–139. <https://doi.org/10.1021/ml200259q>.
- (125) Wang, X.; Kolesnikov, A.; Tay, S.; Chan, G.; Chao, Q.; Do, S.; Drummond, J.; Ebens, A. J.; Liu, N.; Ly, J.; Harstad, E.; Hu, H.; Moffat, J.; Munugalavada, V.; Murray, J.; Slaga, D.; Tsui, V.; Volgraf, M.; Wallweber, H.; Chang, J. H. Discovery of 5-Azaindazole (GNE-955) as a Potent Pan-Pim Inhibitor with Optimized Bioavailability. *J. Med. Chem.* **2017**, *60* (10), 4458–4473. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00418>.
- (126) Wang, H. L.; Andrews, K. L.; Booker, S. K.; Canon, J.; Cee, V. J.; Chavez, F.; Chen, Y.; Eastwood, H.; Guerrero, N.; Herberich, B.; Hickman, D.; Lanman, B. A.; Laszlo, J.; Lee, M. R.; Lipford, J. R.; Mattson, B.; Mohr, C.; Nguyen, Y.; Norman, M. H.; Pettus, L. H.; Powers, D.; Reed, A. B.; Rex, K.; Sastri, C.; Tamayo, N.; Wang, P.; Winston, J. T.; Wu, B.; Wu, Q.; Wu, T.; Wurz, R. P.; Xu, Y.; Zhou, Y.; Tasker, A. S. Discovery of (R)-8-(6-Methyl-4-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyrrolo[3,4-b]pyrrol-2-yl)-3-(1-methylcyclopropyl)-2-((1-methylcyclopropyl)amino)quinazolin-4(3H)-one, a Potent and Selective Pim-1/2 Kinase Inhibitor for Hematological Malignancies. *J. Med. Chem.* **2019**, *62* (3), 1523–1540. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01733>.
- (127) Tao, Z. F.; Hasvold, L. A.; Levenson, J. D.; Han, E. K.; Guan, R.; Johnson, E. F.; Stoll, V. S.; Stewart, K. D.; Stamper, G.; Soni, N.; Bouska, J. J.; Luo, Y.; Sowin, T. J.; Lin, N. H.; Giranda, V. S.; Rosenberg, S. H.; Penning, T. D. Discovery of 3H-benzo[4,5]thieno[3,2-d]pyrimidin-4-ones as potent, highly selective, and orally bioavailable inhibitors of the human protooncogene proviral insertion site in moloney murine leukemia virus (PIM) kinases. *J. Med. Chem.* **2009**, *52* (21), 6621–6636. <https://doi.org/10.1021/jm900943h>.
- (128) Li, G.; Zhang, W.; Xie, Y.; Li, Y.; Cao, R.; Zheng, G.; Huang, N.; Zhou, Y. Structure-Based Optimization of 10-DEBC Derivatives as Potent and Selective Pim-1 Kinase Inhibitors. *J. Chem. Inf. Model.* **2020**, *60* (6), 3287–3294. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.0c00245>.
- (129) Ki Werte für LGH447 (PIM447) <https://www.selleckchem.com/products/pim447-lgh447.html>.
- (130) Bullock, A. N.; Debreczeni, J. É.; Fedorov, O. Y.; Nelson, A.; Marsden, B. D.; Knapp, S. Structural basis of inhibitor specificity of the human protooncogene proviral insertion site in moloney murine leukemia virus (PIM-1) kinase. *J. Med. Chem.* **2005**, *48* (24), 7604–7614. <https://doi.org/10.1021/jm0504858>.
- (131) Foulks, J. M.; Carpenter, K. J.; Luo, B.; Xu, Y.; Senina, A.; Nix, R.; Chan, A.; Clifford, A.; Wilkes, M.; Vollmer, D.; Brenning, B.; Merx, S.; Lai, S.; McCullar, M. V.; Ho, K. K.; Albertson, D. J.; Call, L. T.; Bearss, J. J.; Tripp, S.; Liu, T.; Stephens, B. J.; Mollard, A.; Warner, S. L.; Bearss, D. J.; Kanner, S. B. A Small-Molecule Inhibitor of PIM Kinases as a Potential Treatment for Urothelial Carcinomas. *Neoplasia* **2014**, *16* (5), 403–412. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2014.05.004>.
- (132) Chevillard, F. (Disse. Improved approaches to ligand growing through fragment docking and fragment-based library design Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades, Dissertation, Philipps-Universität Marburg, 2016.
- (133) Chevillard, F.; Kolb, P. SCUBIDOO: A Large yet Screenable and Easily Searchable Database of Computationally Created Chemical Compounds Optimized toward High Likelihood of Synthetic Tractability. *J. Chem. Inf. Model.* **2015**, *55* (9), 1824–1835. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.5b00203>.
- (134) Hartenfeller, M.; Eberle, M.; Meier, P.; Nieto-Oberhuber, C.; Altmann, K. H.; Schneider, G.; Jacoby, E.; Renner, S. A collection of robust organic synthesis reactions for in silico molecule design. *J. Chem. Inf. Model.* **2011**, *51* (12), 3093–3098. <https://doi.org/10.1021/ci200379p>.
- (135) Peters, J. O. Design und Synthese von Pim-1-Kinase-Inhibitoren, Philipps-Universität Marburg, 2016.
- (136) Chevillard, F. Improved approaches to ligand growing through fragment docking and fragment-based library design, Dissertation, Philipps-Universität Marburg, 2016.
- (137) Congreve, M.; Carr, R.; Murray, C.; Jhoti, H. A 'Rule of Three' for fragment-based lead discovery? *Drug Discov. Today* **2003**, *8* (19), 876. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(03\)02765-X](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(03)02765-X).
- (138) Siefker, C. Characterisation and differentiation of kinase binding pockets in PKA and Pim1 by small molecule fragments using protein crystallography, Dissertation, Philipps-Universität Marburg, 2018.
- (139) Chevillard, F.; Rimmer, H.; Betti, C.; Pardon, E.; Ballet, S.; Van Hilten, N.; Steyaert, J.; Diederich, W. E.; Kolb, P. Binding-Site Compatible Fragment Growing Applied to the Design of β 2 -Adrenergic Receptor Ligands. *J. Med. Chem.* **2018**, *61* (3), 1118–1129. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01558>.
- (140) Lundbeck, H.; Jørgensen, M.; Bruun, A.; Rasmussen, L.; Larsen, M. Triazolopyrazine derivatives and their use for treating neurological and psychiatric disorders. WO 2013/034755 A1, 2013.

- (141) Braun, F.; Bertoletti, N.; Möller, G.; Adamski, J.; Steinmetzer, T.; Salah, M.; Abdelsamie, A. S.; Van Koppen, C. J.; Heine, A.; Klebe, G.; Marchais-Oberwinkler, S. First Structure-Activity Relationship of 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 14 Nonsteroidal Inhibitors and Crystal Structures in Complex with the Enzyme. *J. Med. Chem.* **2016**, *59* (23), 10719–10737. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01436>.
- (142) Shi, L.; Guan, Q.; Gao, X.; Jin, X.; Xu, L.; Shen, J.; Wu, C.; Zhu, X.; Zhang, C. Reaction-Based Color-Convertible Fluorescent Probe for Ferroptosis Identification. *Anal. Chem.* **2018**, *90* (15), 9218–9225. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b01721>.
- (143) Hesse, M.; Meier, H.; Zeeh, B. *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 8. Auflage.; S. 153, Thieme, 8. Auflage, 2012.
- (144) Wermuth, C. G. *The Practice of Medicinal Chemistry*, 2th Aufl.; Elsevier, 2003.
- (145) Cop, P.; Maile, R.; Sun, Y.; Khalid, O.; Djerdj, I.; Esch, P.; Heiles, S.; Over, H.; Smarsly, B. M. Impact of Aliovalent/Isovalent Ions (Gd, Zr, Pr, and Tb) on the Catalytic Stability of Mesoporous Ceria in the HCl Oxidation Reaction. *ACS Appl. Nano Mater.* **2020**, *3* (8), 7406–7419. <https://doi.org/10.1021/acsanm.0c00994>.
- (146) Ishiyama, T.; Murata, M.; Miyauro, N. Palladium(0)-Catalyzed Cross-Coupling Reaction of Alkoxydiboron with Haloarenes: A Direct Procedure for Arylboronic Esters. *J. Org. Chem.* **1995**, *60* (23), 7508–7510. <https://doi.org/10.1021/jo00128a024>.
- (147) Hendrickson, T.; Ho, K.-K.; Saunders, M.; Stevens, B.; Swierczek, K.; Wright, K. Preparation of Pyrrolo[2,3-b]pyridine derivatives as DNMT inhibitors useful in the treatment of cancer. WO 2013/062945 A1, 2013.
- (148) Lin, A.; Horvath, D.; Afonina, V.; Marcou, G.; Reymond, J. L.; Varnek, A. Mapping of the Available Chemical Space versus the Chemical Universe of Lead-Like Compounds. *ChemMedChem* **2018**, *13* (6), 540–554. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201700561>.
- (149) Taylor, C. Discovery and development of novel inhibitors for the kinase Pim-1 and G-Protein Coupled Receptor Smoothened, Philipps-Universität Marburg, 2019.
- (150) Barluenga, J.; Jiménez-Aquino, A.; Aznar, F.; Valdés, C. Modular synthesis of indoles from imines and o-dihaloarenes or o-chlorosulfonates by a Pd-catalyzed cascade process. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (11), 4031–4041. <https://doi.org/10.1021/ja808652a>.
- (151) Sellitto, G.; Faruolo, A.; De Caprariis, P.; Altamura, S.; Paonessa, G.; Ciliberto, G. Synthesis and anti-hepatitis C virus activity of novel ethyl 1H-indole-3-carboxylates in vitro. *Bioorganic Med. Chem.* **2010**, *18* (16), 6143–6148. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.06.058>.
- (152) Xi, Z.; Zhou, Y.; Chen, W. Efficient Negishi coupling reactions of aryl chlorides catalyzed by binuclear and mononuclear nickel-N-heterocyclic carbene complexes. *J. Org. Chem.* **2008**, *73* (21), 8497–8501. <https://doi.org/10.1021/jo8018686>.
- (153) King, A. O.; Okukado, N.; Negishi, E. I. Highly general stereo-, regio-, and chemo-selective synthesis of terminal and internal conjugated enynes by the Pd-catalysed reaction of alkynylzinc reagents with alkenyl halides. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1977**, Nr. 19, 683–684. <https://doi.org/10.1039/C39770000683>.
- (154) Littke, A. F.; Fu, G. C. A convenient and general method for Pd-catalyzed Suzuki cross-couplings of aryl chlorides and arylboronic acids. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **1999**, *37* (24), 3387–3388. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3773\(19981231\)37:24<3387::AID-ANIE3387>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3773(19981231)37:24<3387::AID-ANIE3387>3.0.CO;2-P).
- (155) Miyauro, N.; Suzuki, A. Stereoselective Synthesis of Arylated (E)-Alkenes by the Reaction of Alk-1-enylboranes with Aryl Halides in the Presence of Palladium Catalyst. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1979**, Nr. 866, 866–867.
- (156) Lee, J. H.; Kim, M.; Kim, I. Palladium-catalyzed α -arylation of aryloxyketones for the synthesis of 2,3-Disubstituted benzofurans. *J. Org. Chem.* **2014**, *79* (13), 6153–6163. <https://doi.org/10.1021/jo500885w>.
- (157) Eastoe, J.; Dominguez, M. S.; Wyatt, P.; Beeby, A.; Heenan, R. K. Properties of a stilbene-containing gemini photosurfactant: Light-triggered changes in surface tension and aggregation. *Langmuir* **2002**, *18* (21), 7837–7844. <https://doi.org/10.1021/la0257384>.
- (158) Duffield, J. J.; Pettit, G. R. Synthesis of (7S,15S)- and (7R,15S)-Dolatrienoic Acid 1a. *J. Nat. Prod.* **2001**, *64* (4), 472–479. <https://doi.org/10.1021/np000502q>.
- (159) Hesse, M.; Meier, H.; Zeeh, B. *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 8. Auflage.; 2012.
- (160) JIN, K. B.; KIM, H. E.; HYUN, M. H. Liquid Chromatographic Resolution of Mexiletine and Its Analogs on Crown Ether-Based Chiral Stationary Phases. *Chirality* **2014**, *26* (April), 272–278. <https://doi.org/10.1002/chir>.
- (161) Kosugi, M.; Shimizu, Y.; Migita, T. Reaction of allyltin compounds. *J. Organomet. Chem.* **1977**, *129* (2), C36–C38. [https://doi.org/10.1016/s0022-328x\(00\)92505-1](https://doi.org/10.1016/s0022-328x(00)92505-1).
- (162) Milstein, D.; Stille, J. K. A General, Selective, and Facile Method for Ketone Synthesis from Acid Chlorides and Organotin Compounds Catalyzed by Palladium. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100* (11), 3636–3638. <https://doi.org/10.1021/ja00479a077>.

- (163) Stille, J. K. The Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organotin Reagents with Organic Electrophiles[New Synthetic Methods(58)]. *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1986**, 25 (6), 508–524. <https://doi.org/10.1002/anie.198605081>.
- (164) Anderson, J. C.; Denton, R. M.; Hickin, H. G.; Wilson, C. Synthesis of dibenzofuran-1,4-diones using the Doetz benzannulation. *Tetrahedron* **2004**, 60, 2327–2335. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2004.01.021>.
- (165) Xia, J.; Yang, G.; Zhuge, R.; Liu, Y.; Zhang, W. Iridium-Catalyzed Asymmetric Hydrogenation of Unfunctionalized Exocyclic C=C Bonds. *Chem. - A Eur. J.* **2016**, 22 (51), 18354–18357. <https://doi.org/10.1002/chem.201604298>.
- (166) Yeom, C. E.; Kim, H. W.; Lee, S. Y.; Kim, B. M. DBU-mediated mild and chemoselective deprotection of aryl silyl ethers and tandem biaryl ether formation. *Synlett* **2007**, Nr. 1, 146–150. <https://doi.org/10.1055/s-2006-958425>.
- (167) Gaukroger, K.; Hadfield, J. A.; Hepworth, L. A.; Lawrence, N. J.; McGown, A. T. Novel syntheses of cis and trans isomers of combretastatin A-4. *J. Org. Chem.* **2001**, 66 (24), 8135–8138. <https://doi.org/10.1021/jo015959z>.
- (168) Lieber, S.; Scheer, F.; Meissner, W.; Naruhn, S.; Adhikary, T.; Müller-Brüsselbach, S.; Diederich, W. E.; Müller, R. (Z)-2-(2-bromophenyl)-3-[(4-(1-methyl-piperazine)amino)phenyl]acrylonitrile (DG172): An orally bioavailable PPAR β / δ -selective ligand with inverse agonistic properties. *J. Med. Chem.* **2012**, 55 (6), 2858–2868. <https://doi.org/10.1021/jm2017122>.
- (169) Frithjof Scheer. Entwicklung neuer selektiver inverser Agonisten für PPAR β / δ , Dissertation, Philipps-Universität Marburg, 2013.
- (170) Cahn, R. S.; Ingold, C.; Prelog, V. Spezifikation der molekularen Chiralität. *Angew. Chemie* **1966**, 78 (8), 413–447. <https://doi.org/10.1002/ange.19660780803>.
- (171) Kunkalkar, R. A.; Laha, D.; Fernandes, R. A. De novo protecting-group-free total synthesis of (+)-muricadienin, (+)-ancepsenolide and (+)-3-hexadecyl-5-methylfuran-2(5H)-one. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, 14 (38), 9072–9079. <https://doi.org/10.1039/c6ob01721e>.
- (172) Mark, K. Beiträge zur Optimierung der Cobalt-katalysierten Diels-Alder-Reaktion zur Synthese von Bi-, Ter- und Quarterphenylen aus Dien-In-Precursoren Masterarbeit. **2017**.
- (173) Yang, K. L.; Blackman, B.; Diederich, W.; Flaherty, P. T.; Mossman, C. J.; Roy, S.; Ahn, Y. M.; Georg, G. I. Formal Total Synthesis of (+)-Salicylhalamides A and B: A Combined Chiral Pool and RCM Strategy. *J. Org. Chem.* **2003**, 68 (26), 10030–10039. <https://doi.org/10.1021/jo0301550>.
- (174) Pittaway, R.; Dingwall, P.; Fuentes, J. A.; Clarke, M. L. CO-Free Enantioselective Hydroformylation of Functionalised Alkenes: Using a Dual Catalyst System to Give Improved Selectivity and Yield. *Adv. Synth. Catal.* **2019**, 361 (18), 4334–4341. <https://doi.org/10.1002/adsc.201900640>.
- (175) Amantini, D.; Fringuelli, F.; Piermatti, O.; Pizzo, F.; Zunino, E.; Vaccaro, L. Synthesis of 4-aryl-1H-1,2,3-triazoles through TBAF-catalyzed [3 + 2] cycloaddition of 2-aryl-1-nitroethenes with TMSN₃ under solvent-free conditions. *J. Org. Chem.* **2005**, 70 (16), 6526–6529. <https://doi.org/10.1021/jo0507845>.
- (176) Sustmann, R. Orbital energy control of cycloaddition reactivity. *Pure Appl. Chem.* **1974**, 40 (4), 569–593. <https://doi.org/10.1351/pac197440040569>.
- (177) Abdellatif, K. R. A.; Fadaly, W. A. A.; Ali, W. A. M.; Kamel, G. M. Synthesis, cyclooxygenase inhibition, anti-inflammatory evaluation and ulcerogenic liability of new 1,5-diarylpazole derivatives. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2016**, 31, 54–60. <https://doi.org/10.1080/14756366.2016.1201815>.
- (178) Knoevenagel, E. Condensation von Malonsäure mit aromatischen Aldehyden durch Ammoniak und Amine. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1898**, 2596–2619.
- (179) Blackburn, G. M.; Dodds, H. L. H. Buffer-catalysed Hydrolysis of Small and Medium Ring Lactones. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1974**, 377–382.
- (180) Islam, K.; Chin, H. F.; Olivares, A. O.; Saunders, L. P.; De La Cruz, E. M.; Kapoor, T. M. A Myosin V Inhibitor Based on Privileged Chemical Scaffolds. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2010**, 49 (45), 8484–8488. <https://doi.org/10.1002/anie.201004026>.
- (181) Sun, L.; Tran, N.; Tang, F.; App, H.; Hirth, P.; McMahon, G.; Tang, C. Synthesis and biological evaluations of 3-substituted indolin-2-ones: A novel class of tyrosine kinase inhibitors that exhibit selectivity toward particular receptor tyrosine kinases. *J. Med. Chem.* **1998**, 41 (14), 2588–2603. <https://doi.org/10.1021/jm980123i>.
- (182) Babij, N. R.; McCusker, E. O.; Whiteker, G. T.; Canturk, B.; Choy, N.; Creemer, L. C.; Amicis, C. V. D.; Hewlett, N. M.; Johnson, P. L.; Knobelsdorf, J. A.; Li, F.; Lorsbach, B. A.; Nugent, B. M.; Ryan, S. J.; Smith, M. R.; Yang, Q. NMR Chemical Shifts of Trace Impurities: Industrially Preferred Solvents Used in Process and Green Chemistry. *Org. Process Res. Dev.* **2016**, 20 (3), 661–667. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.5b00417>.
- (183) Köster, H. Endothiapepsin und Proteinkinase A: Komplexstrukturen mit neuartigen Inhibitoren, Durchmustern einer Fragmentbibliothek sowie Inhibitor-design ausgehend von einer Sonde, Dissertation, Philipps-Universität Marburg, 2012.
- (184) Tokarski, J. S.; Newitt, J. A.; Chang, C. Y. J.; Cheng, J. D.; Wittekind, M.; Kiefer, S. E.; Kish, K.; Lee, F. Y. F.; Borzilleri, R.; Lombardo, L. J.; Xie, D.; Zhang, Y.; Klei, H. E. The structure of dasatinib (BMS-354825) bound to activated ABL kinase

- domain elucidates its inhibitory activity against imatinib-resistant ABL mutants. *Cancer Res.* **2006**, *66* (11), 5790–5797. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-4187>.
- (185) Cowan-Jacob, S. W.; Fendrich, G.; Floersheimer, A.; Furet, P.; Liebetanz, J.; Rummel, G.; Rheinberger, P.; Centeleghe, M.; Fabbro, D.; Manley, P. W. Structural biology contributions to the discovery of drugs to treat chronic myelogenous leukaemia. *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* **2006**, *63* (1), 80–93. <https://doi.org/10.1107/S0907444906047287>.

Lebenslauf

Zum Schutz personenbezogener Daten steht der Lebenslauf in der Online-Version nicht zur Verfügung.